

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Química

"AUMENTO DE SENSIBILIDADE DE DETECÇÃO DE ESPÉCIES HIDROLÍTIICAS  
DE Cr(III), POR DERIVATIZAÇÃO PÓS-COLUNA,  
SEPARADAS CROMATOGRAFICAMENTE."

Cláudia Carvalhinho Windmøller

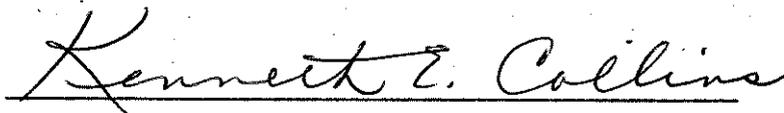
ORIENTADOR: Prof. Dr. Kenneth Elmer<sup>E.</sup> Collins

TESE DE MESTRADO - 1992

92.23478/02



"ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE A REDAÇÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA  
POR CLÁUDIA CARVALHINHO WINDMÖLLER E APROVADO PELA COMISSÃO JULGADORA  
NO DIA 21 DE SETEMBRO DE 1992"



Kenneth Elmer Collins

"Para ser grande, sê inteiro  
nada teu exagera ou exclui  
põe quanto és, no mínimo que fazes  
assim, a lua inteira brilha, porque alta vive"

Fernando Pessoa

*Aos meus pais e irmãos, pela  
oportunidade de estudo e por todo apoio*

*Ao Dario, com amor*

*dedico esta tese*

## Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Kenneth Collins, pela amizade e orientação, estando sempre disponível e pronto para ajudar.

A Profa. Dra. Carol Hollingworth Collins pelo apoio e colaboração espontânea que foram essenciais na realização deste trabalho.

Ao Prof. João Carlos e Profa. Isabel Jardim, pelos auxílios e sugestões.

Ao Paulão, pelo apoio e ajuda com o microcomputador.

A Carminha, pela amizade e ajuda nos trabalhos finais da tese.

Aos colegas do laboratório, João, Lúcia, Chico, Tânia, Hormesino, Marcelo, Sônia, Anna Lúcia, Pancho, Dedé, Pezzin, E.T., que de alguma forma contribuíram para minha maturidade.

Ao Instituto de Química, pela oportunidade concedida.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

## ÍNDICE

página

- Resumo

- Abstract

I-INTRODUÇÃO.....	1
1 - Especificação Química.....	1
1.1 - Especificação de Cromo.....	1
1.2 - Espécies Hidrolíticas Poliméricas de Cr(III).....	3
1.2.1 - Separação e Detecção das Espécies.....	4
1.2.2 - Estrutura das Espécies.....	7
1.2.3 - Estabilidade das Espécies.....	11
2 - Cromatografia por Troca Iônica.....	12
2.1 - Resinas de Troca Iônica.....	14
2.2 - Trocadores Suportados em Sílica.....	14
3 - Derivatização.....	16
4 - Radioquímica.....	19
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
III - OBJETIVOS DO TRABALHO.....	28

IV - PARTE EXPERIMENTAL.....	30
1 - Equipamento .....	30
1.1 - Sistema HPLC.....	32
1.1.1 - Colunas .....	32
1.1.1.1 - Enchimento das Colunas.....	33
1.1.2 - Injetor.....	33
1.2 - Sistema de Derivatização.....	34
1.3 - Sistemas de Detecção.....	35
1.3.1 - Fotômetro Simples para FIA.....	35
1.3.2 - Espectrofotômetros.....	38
1.3.3 - Detector de Raios-gama.....	39
1.4 - Outros Instrumentos.....	43
2 - Soluções.....	43
2.1 - Soluções de Cr(VI).....	43
2.2 - Soluções de Cr(III).....	43
2.2.1 - $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ .....	43
2.2.2 - Solução de Espécies Hidrolíticas de Cr(III)...	44
2.2.3 - Solução de Espécies Hidrolíticas de Cr(III) Marcada com $^{51}\text{Cr}$ .....	44
2.3 - Fases Móveis.....	45
2.4 - Soluções para o Sistema de Derivatização.....	46

2.4.1 - Reação de Oxidação .....	46
2.4.2 - Reação de Complexação.....	47
V - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
1 - Testes Preliminares.....	49
1.1 - Curva de Calibração para o Sistema FIA.....	49
1.2 - Verificação de Interferência das Fases Móveis.....	53
1.3 - Verificação da Resposta do Sistema	
Detector/Registrador.....	54
2 - Otimização do Sistema de Derivatização.....	55
2.1 - Comprimento da Bobina de Oxidação.....	55
2.2 - Temperatura do Banho.....	56
2.3 - Concentração da Solução de Cério(IV).....	57
3 - Corridas Cromatográficas.....	58
4 - Curvas de Calibração para Cr(III) e para Cr(VI).....	63
5 - Comparações entre o Sistema HPLC e o Sistema Convencional..	66
6 - Mudanças de Fases Estacionárias.....	68
7 - Comparação entre a Detecção Direta (415 nm) e a Detecção	
Após o Sistema de Derivatização (540 nm).....	69
8 - Detecções Simultâneas Fotométrica e Radiométrica .....	71
8.1 - Teste de Preparação de Solução de Espécies	
Hidrolíticas de Cr(III) Marcada com <sup>51</sup> Cr.....	71

8.2 - Teste de Eficiência de Detecção das Espécies

Hidrolíticas Poliméricas.....	74
9 - Variações na Composição das Espécies com o Tempo.....	81
10 - Informações Sobre Atribuição de Espécies. ....	82
VI) CONCLUSÕES.....	83
VII) BIBLIOGRAFIA.....	84

## Resumo

As espécies de Cr(III) podem ser separadas cromatograficamente, uma vez que o comportamento hidrolítico de Cr(III) é caracterizado pela cinética lenta de suas reações. A detecção fotométrica delas se caracteriza por uma absorvidade baixa no visível (415 nm), dificultando a detecção quando a concentração é muito baixa. A identificação dessas espécies é ainda um grande desafio.

Neste trabalho conseguiu-se uma boa separação e a detecção de pelo menos seis dessas espécies, com um equipamento de HPLC e uma coluna de troca catiônica acoplado a um sistema de derivatização pós-coluna.

A oxidação do Cr(III) e complexação com difenilcarbazida permitiu a detecção dessas espécies (a 540 nm) com maior sensibilidade do que a 415 nm. Foi feito um acompanhamento radioquímico da saída dos picos, onde verificou-se que as espécies são detectadas, tanto pela reação pós-coluna, como por radioatividade, com a mesma eficiência entre si, uma vez que o sinal obtido é proporcional ao número de átomos de cromo existente em cada pico.

Foi estudada a eficiência das reações de oxidação e de complexação do sistema de derivatização e estas se mostraram grandes na faixa de concentração usada. O limite de detecção, pela derivatização pós-coluna, no equipamento aqui desenvolvido, foi de  $10^{-5}$  M.

O uso do equipamento mostrou-se, portanto, útil para a separação e detecção das espécies, podendo ser usado para muitos estudos sobre química de cromo onde a especiação de Cr(III) se faz necessária.

## Abstract

The several chromium(III) species can be chromatographically separated since the hydrolytic behavior of Cr(III) is characterized by slow kinetic reactions. Its photometric detection is characterized by a low absorptivity in the visible (415 nm) that makes detection difficult when the concentration is low. Further, the identification of these species is still a big challenge.

In this work we obtained a good separation with the detection of at least six species, using an HPLC system with a cation exchange column, coupled to a post-column derivatization system.

Cr(III) oxidation and complexation with diphenylcarbazide allows the detection of these species (at 540 nm) with higher sensibility than at 415 nm. The separation was also followed radiochemically, verifying that the species are detected, either by the post-column reaction or by radioactivity, with the same efficiency, since the signal obtained is proportional to the number of chromium atoms in each peak.

The efficiency of the oxidation and complexation reactions of the derivatization system were studied and maximized for the concentration range used. The detection limit was  $10^{-5}$  M.

Thus, the equipment is useful for the separation and detection of the Cr(III) species and can be used in many studies of chromium chemistry, where the speciation of Cr(III) is necessary.

## I - INTRODUÇÃO

### 1 - Especificação Química<sup>(1)</sup>

Especificação química pode ser definida como a determinação de concentrações individuais de várias formas químicas de um elemento em uma amostra. Já estamos vendo o aumento de interesse dos químicos, bioquímicos e biólogos em técnicas de especificação química. Isto porque está se tornando mais e mais evidente que tanto biutilidades como toxicidade são criticamente dependentes da forma química da substância sob teste. Medidas de concentração total de um nutriente ou elemento traço proporciona muito pouca informação sobre a biutilidade dessa substância. Sabe-se agora que muitas vitaminas e elementos essenciais existem em uma variedade de formas químicas e a assimilação deles varia grandemente de acordo com essas formas.

#### 1.1 - Especificação de Cromo

O Cromo existe, na natureza, predominantemente em dois estados de oxidação: Cr(III) e Cr(VI). O Cr(VI) tem se mostrado tóxico em experimentos com animais e o Cr(III), em determinada dose, essencial para o metabolismo animal. Ele é necessário para manter normal o fator de tolerância de glucose, por exemplo.<sup>(2)</sup>

As fontes de Cromo no meio ambiente incluem cromatos descartados de sistemas de eletrodeposição; inibidores corrosivos de sistemas de refrigeração; soluções descartadas de corantes oxidativos e lixívia proveniente de aterros sanitários.<sup>(3)</sup>

Em métodos analíticos, para viável estudo sistemático do destino e efeitos causados pelo Cromo, sistemas para análises-traço de Cromo em águas naturais devem ser extremamente sensíveis.<sup>(3)</sup>

A concentração total em rios não poluídos está na faixa de 0-50 ppb, enquanto em águas marinhas por volta de 0,04 ppb.<sup>(3)</sup>

Não há ainda muitos estudos sobre especiação de Cromo. Muitas vezes os sistemas contendo Cromo são bastante complexos, devido à quantidade muito grande de espécies presentes, a dificuldade de separá-las e o pouco conhecimento da cinética de suas formações.

Cr(III) existe, em águas naturais, na forma hidrolisada, complexado, e mesmo adsorvido em material coloidal.<sup>(3)</sup>

Em solução aquosa, especiação para Cromo é baseada na química de  $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  e  $\text{CrO}_4^{2-}$ , assim como suas formas hidrolíticas, como  $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})^{2+}$  e  $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2^+$  para Cr(III) e  $\text{HCrO}_4^-$ ,  $\text{H}_2\text{CrO}_4$  e  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  para Cr(VI). Porém, muitas outras espécies, envolvendo outros íons, podem estar presentes em solução aquosa.

Há, portanto, necessidade de informação sobre especiação e, como as espécies de Cr(III) são relativamente inertes, cromatografia de troca iônica tem se mostrado o sistema mais apropriado para seus

estudos.

Nossa ênfase será sobre a especiação de Cromo(III), uma vez que esse é o objeto de estudo deste projeto.

Sabe-se que todos os íons metálicos sofrem hidrólise em meio aquoso. As espécies hidrolíticas que se formam incluem as monoméricas, oligoméricas e poliméricas. Frequentemente as interconversões destas espécies são muito rápidas. Entretanto, no caso do Cromo, as espécies hidrolíticas são relativamente estáveis, exceto com bruscas mudanças de acidez.

### 1.2 - Espécies Hidrolíticas Poliméricas de Cr(III)

Em solução aquosa, polimerização hidrolítica é uma das reações mais importantes e fundamentais de íons metálicos polivalentes.<sup>(4)</sup>

O Cromo é um importante elemento de transição do tipo  $d^3$ . Porque o íon de Cr(III) é muito inerte, seu processo de polimerização é bastante lento e seu estado de polimerização complicado, então, seu estudo sistemático nem sempre é conseguido.<sup>(4)</sup>

A razão para esse singularmente lento processo tem sido dada em termos de teoria de campo ligante (Schlafer e Gliemann, 1969). O processo de polimerização de Cromo envolve não somente a formação de pontes oxo ou hidroxio, como se poderia esperar, mas a troca de ligantes dos átomos de Cromo.

Cálculos mostram que o aumento na energia indo da configuração

octaédrica de  $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  para uma piramidal quadrática ou bipiramidal pentagonal do intermediário é maior para os metais de transição do tipo  $d^3$ . A grandeza dessa barreira resulta numa diminuição da velocidade para os íons  $d^3$  de muitas ordens de magnitude comparado com os íons de outras configurações  $d$ .<sup>(5)</sup>

Numerosos investigadores têm mostrado por uma variedade de métodos que Cr(III) forma polímeros hidrolíticos. Misturas de espécies estão geralmente presentes no equilíbrio em solução aquosa e a interpretação delas torna-se um desafio, devido a dificuldades de determinação de todas as fórmulas e constantes de equilíbrio sem ambiguidade. Devido à lentidão que essas espécies se interconvertem, há possibilidade de análise do sistema por separação dos componentes individuais na sua forma pura.<sup>(6)</sup>

O número de espécies que se formam e a quantidade de cada uma delas varia grandemente com o pH e o tratamento que foi dado à solução.

### 1.2.1 - Separação e Detecção das Espécies

A separação das espécies hidrolíticas é feita por cromatografia. Há trabalhos utilizando cromatografia por deslocamento e por troca iônica. Os melhores resultados foram obtidos com troca iônica.

Os primeiros trabalhos conseguiram a separação de três espécies, que foram chamadas monomérica, dimérica e trimérica.

Até hoje foi conseguida a separação de no máximo seis dessas espécies e evidências da existência de espécies poliméricas maiores.

As concentrações dessas espécies é normalmente muito pequena e, portanto, de difícil detecção. As técnicas já utilizadas nesses casos são as radioquímicas e as espectrofotométricas.

Pela técnica radioquímica é possível obter-se registros cuja área é proporcional ao número total de átomos de Cromo ali presentes e não ao número de unidades (mono ou polinucleares) de cada espécie.

Para detecção fotométrica, a Figura 1 mostra os espectros de absorção para algumas delas, e a tabela 1 os valores de  $\lambda_{max}$  e  $\epsilon$ .

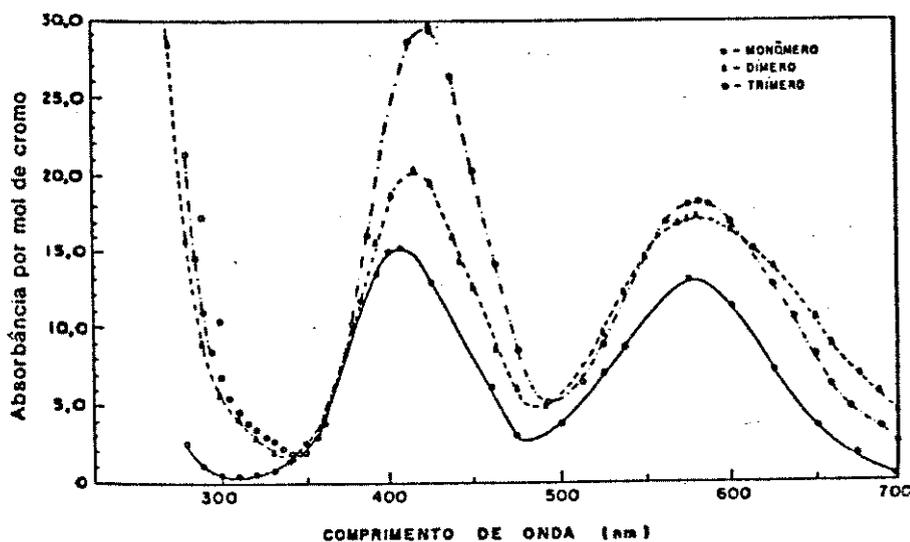


Figura 1- Espectros de absorção no visível para algumas espécies hidrolíticas poliméricas de Cr(III).  
(7)

O espectro de absorção dessas espécies está relacionado com transições d-d no metal, que são proibidas pelas regras de mecânica quântica e, portanto, os valores de  $\epsilon$  são baixos.<sup>(8)</sup>

Vê-se que elas têm espectros muito parecidos, com máximos de absorção próximos a 415 nm.

Tabela 1: Valores de  $\lambda_{\max}$  e  $\epsilon$  para espécies hidrolíticas de Cr(III)\*

espécie	$\lambda_{\max}$	$\epsilon$ ( $M^{-1} \text{cm}^{-1}$ por íon de Cr(III))
monômero	575	13.2
	408	15.5
dímero	582	17.4
	417	20.4
trímero	584	19.2
	425	30.5
tetrâmero	580	15.6
	426	30.3
hexâmero	585	18.6
	426	29.0

\* referencia (9)

Maiores detalhes sobre separação e detecção das espécies será descrito na revisão bibliográfica.

### 1.2.2 - Estrutura das Espécies

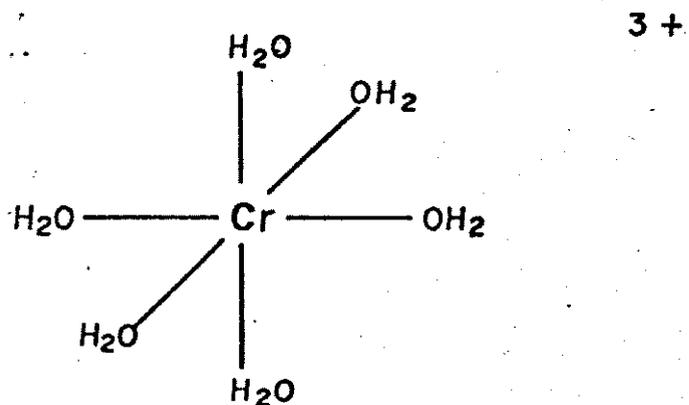
A partir do isolamento de espécies, muitos estudos podem ser feitos para determinação de suas estrutura (com a vantagem da confiança na quase exclusiva e constante coordenação octaédrica dos centros de Cr(III)).

Muitos outros complexos de Cr(III), facilmente obtidos na sua forma cristalina, já têm estruturas muito bem definidas, usando-se técnicas de difração de raio-X, absorções eletrônica e infra-vermelho e análise elementar.<sup>(10),(11),(12),(13)</sup>

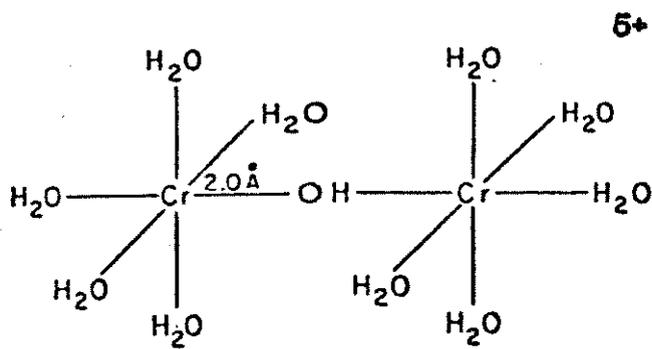
As espécies hidrolíticas não foram ainda obtidas na forma cristalina, devido a baixas concentrações que normalmente se encontram, a dificuldade de obtê-las livres de outros íons e pouco conhecimento sobre suas estabilidades.

As primeiras tentativas têm sido feitas com a obtenção dos chamados "hidróxidos ativos" das espécies dimérica e trimérica e daí obtenção de um sal.<sup>(14),(15)</sup>

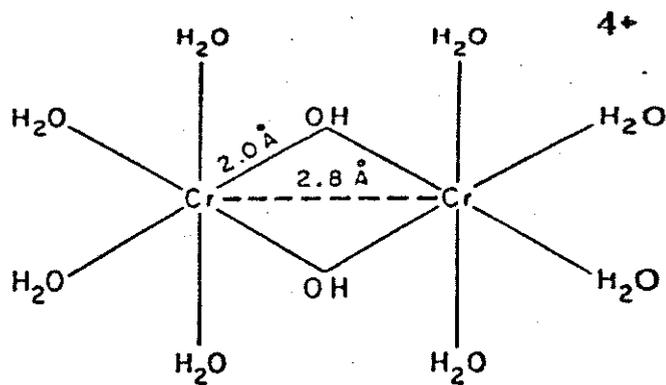
Estudos já feitos mostram que o monômero possui estrutura octaédrica com seis moléculas de água na esfera de coordenação:



Através de reações de hidrólise esse monômero forma espécies poliméricas de carga elevada. Sabe-se da existência de isômeros dessas espécies, devido a grande possibilidade de arranjo geométrico das unidades octaédricas com centro de átomo de Cromo. As estruturas propostas para o dímero foram as de ponte simples e dupla:<sup>(7)</sup>

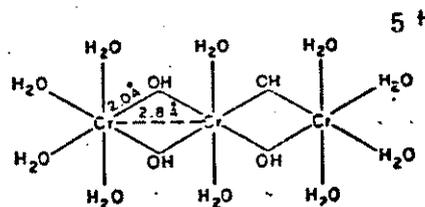
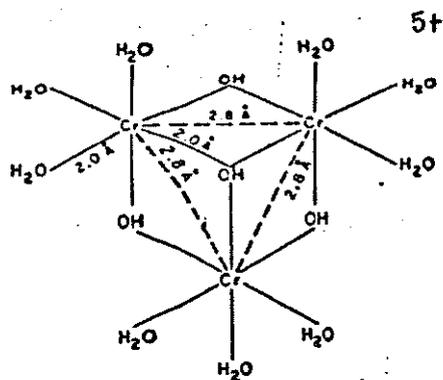


ponte simples

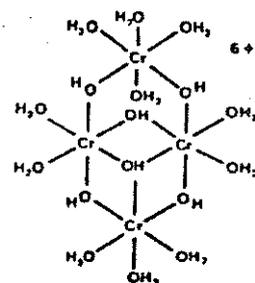
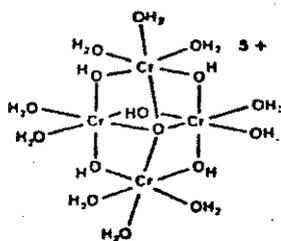
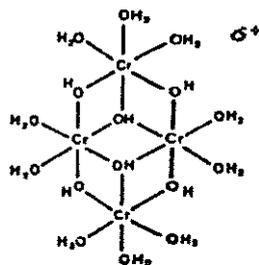


ponte dupla

As estruturas propostas para o trîmero<sup>(7)</sup> e tetrâmero<sup>(9), (16)</sup> são:



estruturas triméricas



estruturas tetraméricas

Ainda não há estudos sobre a estrutura das demais espécies poliméricas.

Os testes realizados para elucidação da estrutura dessas espécies são:

- Carga de cada átomo de Cromo: titulação condutométrica<sup>(17)</sup>
- Carga de cada espécie polimérica: testes de adsorção em resina de troca iônica.<sup>(17)</sup>
- Grau de polimerização: testes de abaixamento de ponto de congelamento de soluções de sais de perclorato<sup>(7),(18),(19)</sup>
- Informações sobre tipos de ligações entre os átomos de Cromo de uma espécie: por exemplo, ponte hidróxido simples, ponte hidróxido dupla da espécie dimérica: dados de suscetibilidade magnética.<sup>(7),(18),(19)</sup>
- Informações sobre número de átomos de Cromo por espécie; se esses átomos são adjacentes: Ressonância Paramagnética Eletrônica<sup>(7),(18)</sup>
- Informações sobre a razão  $\text{OH}^-/\text{Cr}$  : titulação com HCl.<sup>(7)</sup>
- Grau de deprotonação de uma espécie em determinado pH: valores de pKa obtidos por titulações alcalinimétricas.<sup>(9),(15),(20),(21)</sup>
- Informações sobre estabilidade das espécies: dados de cinética e padrão de clivagem ácida.<sup>(9),(15)</sup>
- Informações sobre pureza de soluções e atribuição de espécies: relação entre os máximos de absorção dos espectros de absorção no UV-visível.<sup>(9),(20),(21)</sup>

As conclusões sobre as estruturas se basearam nesses testes de uma forma complementar.

### 1.2.3 - Estabilidade das Espécies

A determinação de estabilidade de intermediários oligoméricos individuais, formados como resultado de polimerização hidrolítica, é um tema clássico na química de coordenação de íons metálicos em solução aquosa. Métodos de titulação potenciométricas são usados extensivamente. Os dados obtidos são assuntos de procedimentos matemáticos para determinar a espécie predominante, assim como suas respectivas constantes de estabilidade.<sup>(22)</sup>

Alguns valores de produtos de solubilidade para as espécies hidrolíticas poliméricas de Cromo(III) são dados na Tabela 2:

Tabela 2: Constantes de acidez de oligômeros de Cr(III):\* \*\*

	monômero	dímero	trímero	tetrâmero
composição	$\text{Cr}^{3+}$	$\text{Cr}_2(\text{OH})_2^{4+}$	$\text{Cr}_2(\text{OH})_4^{5+}$	$\text{Cr}_4(\text{OH})_6^{6+}$
valores de pKa	4.29	3.68	4.35	2.55
	6.1	6.04	5.63	5.08
			6.0	
n <sup>o</sup> de titulações	3	3	3	4

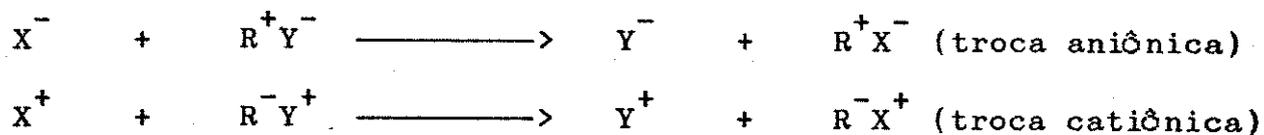
\* de referencia 9

\*\* I= 1.0 M NaClO<sub>4</sub> a 25° C

## 2 - Cromatografia por Troca Iônica <sup>(23),(24)</sup>

A Cromatografia de Troca Iônica (CTI) foi o primeiro dos métodos de Cromatografia Líquida (CL) a ser largamente usado sob as condições modernas de CL. CTI automatizada data do começo de 1960, com a introdução de análise de rotina de aminoácidos por CL. Atualmente CTI tem se tornado menos popular que outros métodos de CL. Ela tem sido substituída, em alguns casos, pela técnica de cromatografia por pares iônicos. Porém, há análises que só podem ser feitas por essa técnica.

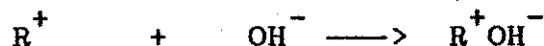
CTI é desenvolvida com fases estacionárias que possuem grupos funcionais carregados. O mecanismo de retenção em CTI é menos conhecido que em outros métodos de CL e exceções podem ser vistas para qualquer regra geral proposta. Apesar disso, previsões úteis podem ser feitas considerando-se que a retenção é resultado de dois processos: distribuição da amostra entre a fase móvel aquosa e a fase estacionária orgânica (partição) e a formação do par iônico. Os fatores que influenciam a formação do par iônico dominam, com o fenômeno da partição sendo menos importante. O mecanismo mais simples é a troca de íons X da amostra e íons Y da fase móvel nos grupos carregados R da fase estacionária:



A retenção relativa da amostra e a quantidade de amostra em CTI aumentam com a capacidade de troca iônica do trocador. Essa propriedade é igual a concentração de grupos iônicos  $R^{\pm}$  mensuráveis (tituláveis) dentro da partícula, mas também varia com o pH. Então, a pH baixo, trocadores catiônicos são neutralizados por adição de próton:



A pH alto, trocadores aniônicos são neutralizados por base:



Muitos trocadores iônicos de CL consistem de uma fase estacionária polimérica com grupos funcionais iônicos [Por exemplo: grupos  $-SO_3^{-}$  para trocadores catiônicos e grupos  $-N(CH_3)_3^{+}$  para trocadores aniônicos]. São as chamadas resinas de troca iônica.

Outros trocadores têm o grupo funcional suportado sobre a superfície de sílica via conexão de grupos orgânicos.

Há ainda os trocadores que consistem de uma fase estacionária polimérica com a capacidade de complexar alguns íons e rejeitar outros (resinas quelantes).

Descreveremos melhor os dois primeiros tipos porque são os mais comumente empregados:

## 2.1 - Resinas de Troca Iônica

Essas resinas são comumente feitas de polímero estireno com ligações cruzadas. Por exemplo, o tipo mais comum de resina de troca catiônica é preparada pela sulfonação de anel benzênico de um copolímero estireno-divinilbenzeno. Variando quantidades de divinilbenzeno na mistura usada para polimerização promove-se o interligamento entre as cadeias lineares de poliestireno. A suspensão da polimerização é usada para assegurar que o polímero final esteja na forma de contas pequenas e esféricas.

## 2.2 - Trocadores Suportados em Sílica

São materiais desenvolvidos a partir de sílica porosa usada em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Uma fase pelicular típica de cromatografia de troca iônica é feita de contas de sílica (25-37  $\mu\text{m}$ ) revestidas com um polímero lauril-metacrilato (P.M. 500) que contém um grupo funcional amônio quaternário. A capacidade de troca iônica (seco) é 0,012 meq/g e a faixa de pH recomendada para uso é 4 a 9. Uma resina de troca catiônica pelicular típica para cromatografia é uma partícula de sílica revestida com um polímero fluorocarbonato sulfonado de baixa massa molecular. A capacidade de troca é extremamente baixa ( $\approx 0,005$  meq/g).

Fases de troca iônica de micropartículas de sílica são agora mais

usadas em HPLC que as partículas peliculadas, pelo menos para separação cromatográfica de cátions e ânions orgânicos. Nessas, uma parte orgânica é usualmente ligada quimicamente aos grupos OH da sílica pela reação com clorosilano ou alcoxisilano. Um grupo ácido-sulfônico ou amônio-quaternário afastado da superfície da sílica por alguns átomos de carbono é o mais comumente usado. Esses trocadores iônicos microparticulados têm usualmente um diâmetro médio de 10  $\mu\text{m}$  e uma capacidade de troca perto de 1 meq/g.

A Tabela 3 indica as propriedades das partículas de troca catiônica utilizadas neste trabalho:

Tabela 3: Características das fases microparticuladas de troca catiônica baseadas em sílica utilizadas neste projeto:

nome	tamanho part. ( $\mu\text{m}$ )	material base	força ion *	ion	contra ion	capac. (meq/g)	faixa de estabilidade
Partisil SCX	10	Partisil	S	( $\text{SO}_3^-$ )	( $\text{NH}_4^+$ )	1	pH 1,5-7,5
Nucleosil SA	5	Nucleosil	S	( $\text{SO}_3^-$ )	( $\text{H}^+$ )	1	pH 1-9

\*refere-se a força de acidez ou basicidade, se o trocador é catiônico ou aniônico, respectivamente. S = fortemente ácida, no caso.

### 3 - Derivatização

As técnicas de derivatização podem ser pré- ou pós-coluna. Por várias razões, pode ocorrer de uma amostra não poder ser injetada diretamente numa coluna, necessitando de um tratamento especial feito num sistema de derivatização pré-coluna.

A técnica de derivatização pós-coluna pode, em princípio, ser utilizada quando a amostra de interesse possui propriedades pobres de detecção. Faz-se então a reação dos componentes que saem da coluna com algum reagente, de forma que o produto formado seja mais sensível ao método de detecção disponível. Além de melhorar as propriedades de detecção, a reação química efetuada pode também aumentar a seletividade do método analítico total.

Várias são as vantagens de se utilizar a derivatização pós-coluna. É desprezível a formação de subprodutos nos reatores pós-coluna, a reação não necessita ser completa e totalmente definida, os produtos da reação não necessitam ser muito estáveis e, por último, diferentes princípios de detecção podem ser usados em série. O único requisito exigido é quanto a reprodutibilidade da reação; quer dizer, as condições da reação devem ser sempre as mesmas.

As desvantagens são: a possibilidade de surgirem problemas de mistura dos reagentes pós-coluna com o efluente, devido a bombeamento

imperfeito; o compromisso entre o(s) solvente(s) usado(s) para efetuar a separação e o meio da reação; perdas da resolução cromatográfica causada pelo alargamento da banda no reator e a interferência de excesso de reagentes no sinal dos produtos da reação.

Em sistemas de especiação Cr(III)/Cr(VI), a detecção fotométrica é muito comum, devido às vantagens que ela apresenta. Para esse tipo de especiação, muitos trabalhos descrevem sistemas de análise por injeção em fluxo,<sup>(25),(26)</sup> nos quais é feita uma etapa de oxidação do Cr(III) para Cr(VI) com, por exemplo, Ce(IV) e outra de complexação do Cr(VI) com difenilcarbazida, produzindo um complexo com alta absorvidade a 540 nm.

A Tabela 4 compara os valores de absorvidade molar para a espécie hexaaquo de Cr(III) em detecção a 408 nm, para cromato em detecção a 366 nm e para o complexo formado por Cr(VI) e difenilcarbazida, a 540 nm.

Tabela 4: Absortividades molares para vários métodos de determinação fotométrica de cromo.

	$\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\lambda$ (nm)
Cr(III) hexaaquo	15,0*	408
Cr(VI)	$4,7 \cdot 10^3$ **	366
Cr(VI) - DFC	$4,2 \cdot 10^4$ **	540

\* de referência 27

\*\* Calculados a partir dos valores de  $\zeta$  (índices de sensibilidade absorptiométrica, em  $\mu\text{g Cr/cm}^2$  para 0.001A)<sup>(28)</sup> por  $\zeta = n(\text{PA})/\epsilon$ , onde n= número de átomos do elemento na fórmula; PA= peso atômico e  $\epsilon$ = absorptividade molar)<sup>(28)</sup>

A Figura 2 mostra os diferentes espectros de absorção para o Cr(VI), Ce(IV), Cr(III) e o complexo Cr(VI)-DFC.

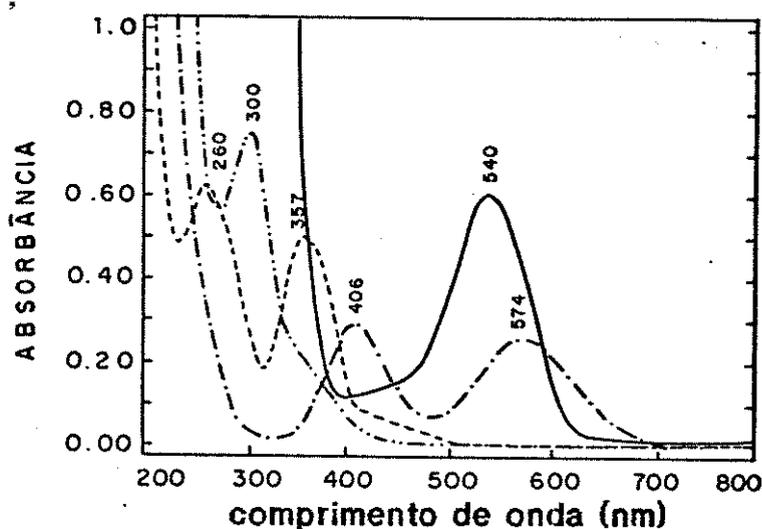
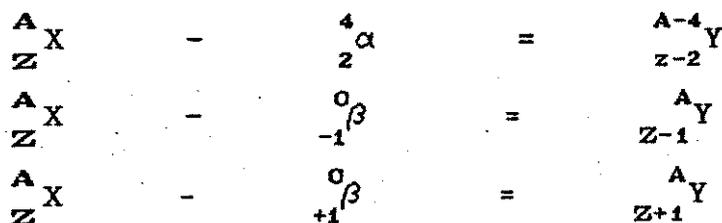


Figura 2- Espectros de absorção de: (— · —) Cério(IV); (---) Cromo(VI); (— · —) Cromo(III); (——) Cromo(VI)-DFC<sup>(29)</sup>

#### 4 - Radioquímica

Os raios-gama são fótons emitidos por núcleos de certos átomos radioativos. Quando um núcleo decai, isto é, passa para um estado mais estável, ele pode fazê-lo de duas maneiras:

(i) Pode ir diretamente ao estado fundamental de outro elemento, por emissão de partículas (alfa, beta ou pósitrons):



onde X representa um átomo qualquer, A o número de massa e Z o número atômico deste átomo. Neste caso, não há emissão de energia na forma de fótons gama.

(ii) Por outro lado, o decaimento pode ser indireto, ou seja, pode ser dirigido a um nível energético superior ao fundamental de outro elemento, emitindo também aqui as partículas mencionadas acima. Para alcançar o estado fundamental, o novo núcleo emite fótons gama que podem ser medidos. Já que somente são possíveis níveis discretos e definidos no novo núcleo, as emissões gama têm energia discreta e bem definida. <sup>(30)</sup>

O cromo possui isótopos cujos números de massa variam de 45 a 57. O <sup>47</sup>Cr não tem ainda as suas propriedades nucleares determinadas, <sup>(31),(32)</sup> sendo os isótopos 50, 52, 53 e 54 os naturais,

com abundâncias relativas de 4,35%, 83,79%, 9,56% e 2,36% respectivamente. Destes, o isótopo  $^{50}\text{Cr}$  é usado na produção do radioisótopo  $^{51}\text{Cr}$  através da reação nuclear  $^{50}\text{Cr}(n,\gamma)^{51}\text{Cr}$ .

O  $^{51}\text{Cr}$  é um radionuclídeo muito conveniente para se medir sua atividade porque, em geral, obtém-se  $^{51}\text{Cr}$  com alta pureza radioisotópica.

O  $^{51}\text{Cr}$  decai por captura eletrônica para o  $^{51}\text{V}$  com uma meia vida de 27,70 dias<sup>(33)</sup>, sendo que 90% desses eventos levam o  $^{51}\text{Cr}$  diretamente ao estado fundamental do  $^{51}\text{V}$ , com a emissão de 752 keV<sup>(34)</sup> de energia, na forma de elétrons Auger ou fótons pouco energéticos (raios-X), os quais geralmente não são utilizados nas contagens de radioatividade. Por outro lado, 10% dos eventos de decaimento ocorrem via estado o  $5/2^-$  do  $^{51}\text{V}$  que, ao decair para o estado fundamental, emite fótons  $\gamma$  de 0,320 MeV. Esta radiação é a mais adequada e conveniente para medir o decaimento do  $^{51}\text{Cr}$ . A figura 3 mostra o decaimento do  $^{51}\text{Cr}$ .

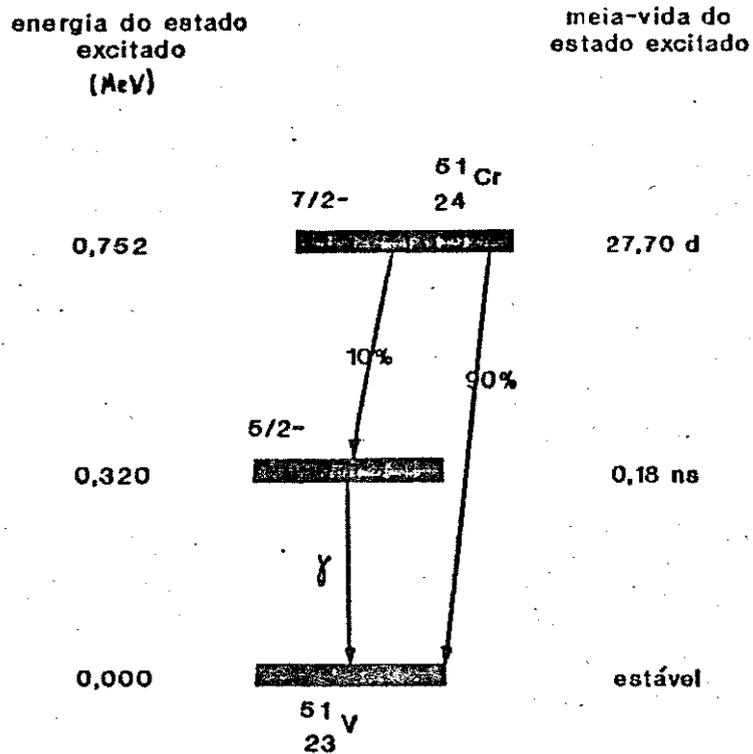


Figura 3- Esquema do decaimento do  $^{51}\text{Cr}$ .

É possível, com um espectrômetro de cintilação sólida, selecionar condições para se contar a radiação gama. Este espectrômetro é perfeitamente adequado para isso, já que os cintiladores são próprios para detecção com eficiência muito alta, e os espectros de linhas discretas de radiação gama permitem análise simultânea de emissores.

A análise por espectroscopia pode ser tanto quantitativa como qualitativa, já que a energia onde cada pico ocorre é característica do emissor gama, e a intensidade do pico é proporcional ao número de entidades que decaem do mesmo isótopo. <sup>(35)</sup>

A Figura 4 mostra um diagrama de blocos de um espectrômetro de cintilação monocanal. Ele trabalha somente numa região do espectro a cada medida e tem somente um contador. Os espectrômetros multicanais monitoram simultaneamente muitas regiões do espectro e requerem contadores múltiplos para as medidas.

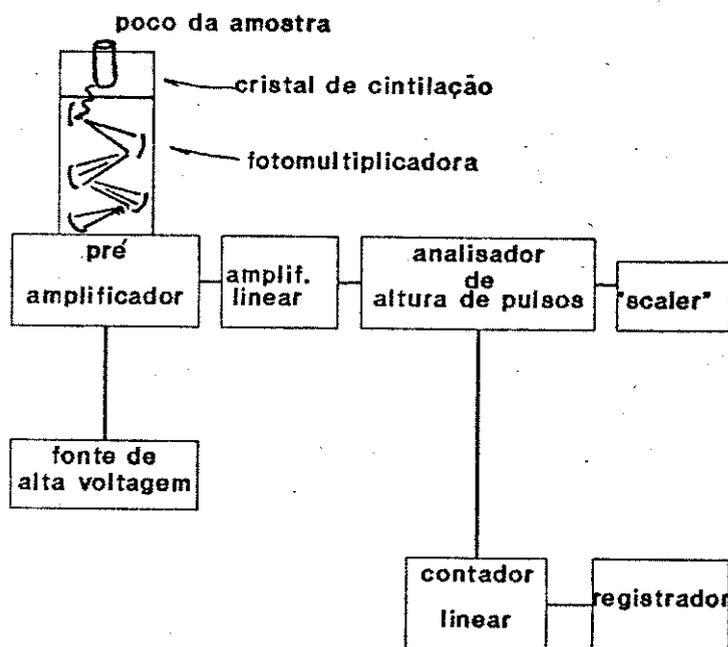


Figura 4 . Diagrama de blocos de um espectrômetro de cintilação monocanal.

Quando um raio- $\gamma$  penetra no cristal do poço mostrado na Figura 4, o cristal cintila, isto é, produz fótons de luz visível, sendo o número de fótons produzidos diretamente proporcional à energia da radiação gama inicial. Para um cristal de NaI ativado com tálio, o que foi utilizado neste trabalho, produz-se cerca de 17.000 fótons, com

energia na região do azul do espectro visível, para cada gama de 1 MeV.

Esses fótons batem no fotocátodo do tubo da fotomultiplicadora, e uma certa porção deles (cerca de 10%) ejetam elétrons. Os elétrons são acelerados e multiplicados em número conforme passam de dínodo a dínodo através da fotomultiplicadora. Na saída, há ao redor de um milhão de vezes mais elétrons do que havia na entrada da fotomultiplicadora. Esses elétrons são levados da fotomultiplicadora a uma resistência, ao longo da qual se produz uma diferença de potencial. Isto representa um pulso que é diretamente proporcional à energia do raio- $\gamma$  original.

O pulso de voltagem produzido na entrada do pré-amplificador é ampliado a uma quantidade fixada no próprio pré-amplificador e no amplificador linear. Este pulso é alimentado num circuito discriminador no analisador de altura de pulsos, onde somente uma faixa estreita de pulsos de voltagem são admitidos. Se o pulso está no tamanho apropriado a ser medido, o contador de pulsos registra o sinal digitalmente, ou o pulso ativa um medidor de contagens por tempo (e, opcionalmente, um registrador).

Para obter-se um espectro de raios gama com um espectrômetro de cintilação monocanal, primeiro é necessário estabelecer-se um suprimento de alta voltagem e valores fixos e constantes no "ganho" do

amplificador linear (o suprimento de alta voltagem determina o "ganho" da fotomultiplicadora). Em segundo lugar, a faixa de aceitação de voltagem é estabelecida em um valor constante, por exemplo, uma "largura" de 0.1 V (esta largura de voltagem é frequentemente denominada de "janela"). Finalmente, o espectro pode ser varrido através de variação contínua, ou em passos, do discriminante de nível inferior de energia, o qual determina a mínima energia admitida no analisador de altura de pulsos. Em outras palavras, esse discriminador mostra o pulso de voltagem mais baixo que o analisador aceitará. <sup>(35)</sup>

## II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O estudo das espécies poliméricas de Cromo teve início em 1908 pelo famoso químico Bjerrum, que usou dados de FEM (Força Eletro Motriz) para investigar grau de hidrólise em soluções de Cr(III) de várias composições medindo  $[H^+]$ .<sup>(4)</sup>

Em 1959/60 Plane e colaboradores<sup>(17), (36)</sup> isolaram por técnica de troca iônica, usando resina Dowex 50, três diferentes espécies; em sistemas de nitrato ou perclorato de Cr(III) refluxado : 1) o monômero (púrpura,  $Cr(H_2O)_6^{3+}$ ), por eluição com  $HClO_4$  1 M; 2) as espécies poliméricas azuis, eluição com  $La(ClO_4)_3$  0,1 M a pH 2; 3) as espécies polinucleares verdes (assumidas serem triméricas), com  $La(ClO_4)_3$  0,2 M a pH 2.

Outro método, desenvolvido por Finholt,<sup>(37)</sup> na mesma época, foi deslocamento por perclorato de tório. Esse método elimina a desvantagem de fornecer as espécies na solução do eluente; por outro lado, dificilmente a segunda banda é obtida pura, normalmente é obtida contaminada com a terceira ou primeira bandas. Mais tarde, para conseguir uma separação mais acurada, ele usou uma forma coloidal de Dowex 50W-X12, onde foram necessários vários dias para separação.

Thompson,<sup>(38)</sup> em 1964, usou Dowex 50W-X4 obtendo também três espécies usando  $Ca(ClO_4)_2$  0,50 - 0,65 M. Ela determinou constantes de equilíbrio para a formação de duas espécies poliméricas a partir do

hexaaquocromo e estudou a cinética de interconversão e decomposição da espécie "dimérica".

Marty e colaboradores<sup>(9), (16), (22), (39)</sup> publicou uma série de quatro artigos, de 1983 a 1989, onde descrevem a separação de até seis espécies, que eles chamam de monômero a hexâmero, e evidenciaram a existência de espécies poliméricas maiores. Usaram Sephadex SPC 25 e soluções de peclorato de sódio ou de lítio como eluentes. A detecção foi feita fotometricamente, após oxidação das espécies. Tipicamente usaram concentrações totais em torno de 0,04 M e volumes de injeção de 5 ml.

Em 1986, Qinhuí e colaboradores<sup>(40)</sup> estudaram a polimerização hidrolítica de Cr(III) sem realizar a separação delas, mas usando medidas de pH e tratando os dados obtidos por vários métodos. Eles indicam que mais de dez espécies hidrolíticas foram encontradas em solução, mostrando o complicado sistema de hidrólise de Cr(III).

Em 1986, Bonato,<sup>(27)</sup> neste laboratório, estudou métodos cromatográficos para separação dessas espécies e o melhor resultado foi obtido com Partisil SCX (10  $\mu$ m). Ela usou um sistema de HPLC diminuindo muito o tempo de análise dos trabalhos citados anteriormente, e obteve um máximo de cinco espécies detectadas a 415 nm. Não foi feita eluição por gradiente de concentração, portanto os

picos dos cromatogramas obtidos não são tão bem resolvidos. Os volumes de injeção típicos foram de 10  $\mu$ l e as concentrações totais de cromo das amostras de 0,05 M.

Spiccia et al,<sup>(14)</sup> em 1987, usou a mesma fase estacionária e  $\text{NaClO}_4$  (0,5 a 4,0 M) para remover dímero, trímero e tetrâmero e  $\text{LiClO}_4$  (4,0 M) para eluir pentâmero e hexâmero como duas bandas emendadas. As concentrações totais, volumes de injeção e método de detecção foram semelhantes aos dos trabalhos de Marty.<sup>(9),(16),(22),(39)</sup>

Em 1988, Collins e colaboradores<sup>(41)</sup> separou, neste laboratório, várias espécies de cromo, incluindo Cr(VI) e Cr(III), usando resina de troca catiônica Bio Rad AG50WX4, 200 a 400 mesh e soluções de  $\text{HClO}_4$  0,01 a 1,0 M,  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  0,25 a 1,0 M e  $\text{La}(\text{ClO}_4)_3$  0,5 M. Foi aplicado tipicamente 1 ml de solução de amostra contendo poucos micromoles de espécies. A detecção foi radiométrica.

Em 1989, Merakis e Spiccia,<sup>(42)</sup> separaram o monômero e duas espécies diméricas, de ponte simples e dupla, usando coluna de Sepharose S a temperatura  $\leq$  278 K. Os eluentes foram soluções esfriadas em banho de gelo de  $\text{HClO}_4$  com concentrações de 0,5 a 2,0 M. Obtiveram assim medidas do equilíbrio entre essas duas espécies diméricas.

### III - OBJETIVOS DO TRABALHO

Podemos perceber que a maioria dos trabalhos citados descrevem métodos cromatográficos em escala preparativa. Portanto, usam quantidades de Cromo detectáveis espectrofotometricamente. Nesses casos, utilizam-se volumes grandes de amostra para ser eluída na coluna cromatográfica, com um tempo de análise da ordem de horas.

A análise de amostras com concentrações baixas e/ou volumes pequenos de amostra são situações frequentes. O desenvolvimento de métodos cada vez mais sensíveis para a especificação e detecção de Cromo é então de grande importância.

A detecção radiométrica de vários elementos químicos, assim como de Cromo, pode ser feita a nível de traços, o que pode ser necessário em vários tipos de trabalhos. Porém, não é uma técnica sempre acessível, devido a necessidade de fontes radioativas do elemento nas formas de interesse.

Por outro lado, as técnicas espectrofotométricas são muito comuns, uma vez que os equipamentos envolvidos não são geralmente sofisticados. A determinação espectrofotométrica das espécies hidrolíticas de Cromo, se caracteriza por uma baixa absorvidade delas no visível, a 408 nm, como vemos na tabela 1. Com a oxidação dessas espécies para cromato, como feito por Marty e colaboradores, já se pode aumentar muito a absorvidade, e com a complexação com

difenilcarbazida ainda mais.

Nosso objetivo com este trabalho é de aumentar a sensibilidade de detecção das espécies hidrolíticas de Cr(III).

Para isso montou-se um equipamento que consiste de um sistema HPLC para separação dessas espécies e acoplou-se um sistema de derivatização pós-coluna, semelhante aos sistema FIA descritos na literatura, onde ocorre a oxidação das espécies e posterior complexação com difenilcarbazida; com medidas fotométricas.

Outro objetivo foi também obter um bom desempenho cromatográfico, ou seja, separar o maior número possível de espécies e bem resolvidas, uma vez que isso nem sempre foi visto nos trabalhos anteriores.

#### IV - PARTE EXPERIMENTAL

##### 1 - Equipamento

Descrevemos com detalhes todas as partes do equipamento, porque ele foi montado no próprio laboratório, pela junção de diferentes equipamentos de pouca sofisticação, sendo viável portanto para ser reproduzido em muitos laboratórios.

A figura 5 indica o esquema do equipamento sendo que os parágrafos a seguir providenciam mais detalhes sobre alguns de seus componentes.

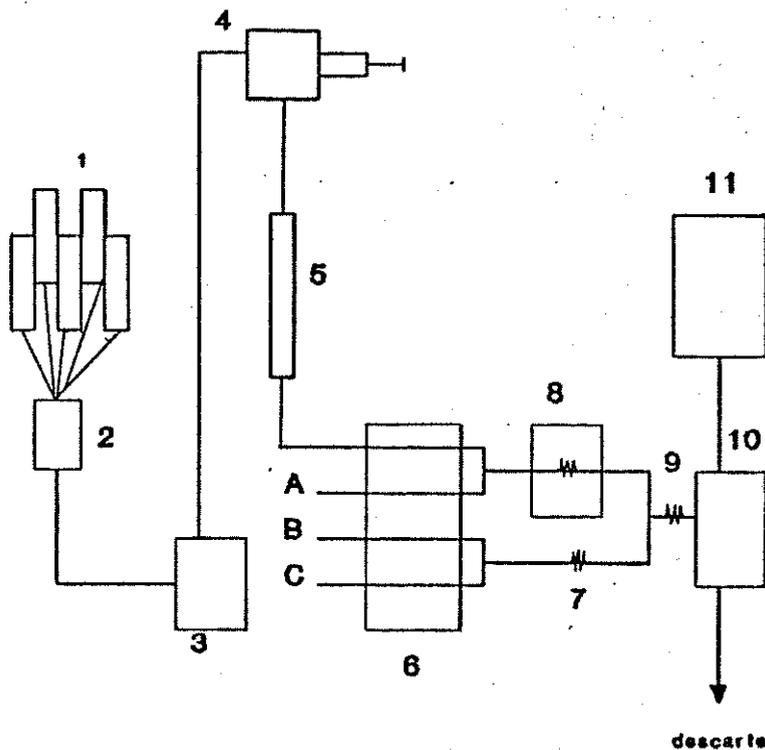


Figura 5- Esquema completo do equipamento montado (ver o texto para identificação dos componentes).

onde:

- (1) reservatório de solventes
- (2) válvula seletora de solventes
- (3) Minibomba-Milton Roy Company - Modelo 396/2396 acoplada a um  
atenuador de pulsos - Milton Roy Company - Modelo 709
- (4) Válvula de injeção Rheodyne - Modelo 8125
- (5) Coluna Cromatográfica
- (6) Bomba dosadora peristáltica - Milan - Modelo 204
- (7) Bobina de mistura (DFC + HNO<sub>3</sub> 0,8 M) (1 m)
- (8) Banho de água (45°C) com bobina de reação de oxidação (1 m)
- (9) Bobina de reação de complexação (Cr(VI) + DFC) (1 m)
- (10) Detector ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ )
- (11) Registrador - Goerz Electro

e

- (A) Entrada de solução 0,5 g Ce(IV)/l em HNO<sub>3</sub> 0,15 M
- (B) Entrada de DFC 0,05%
- (C) Entrada de HNO<sub>3</sub> 0,8 M

As bobinas foram feitas com tubos de polietileno de 0,6 mm de  
d.i.

## 1.1 - Sistema HPLC

A configuração dos componentes do sistema HPLC é mostrada na figura 6 com mais detalhes.

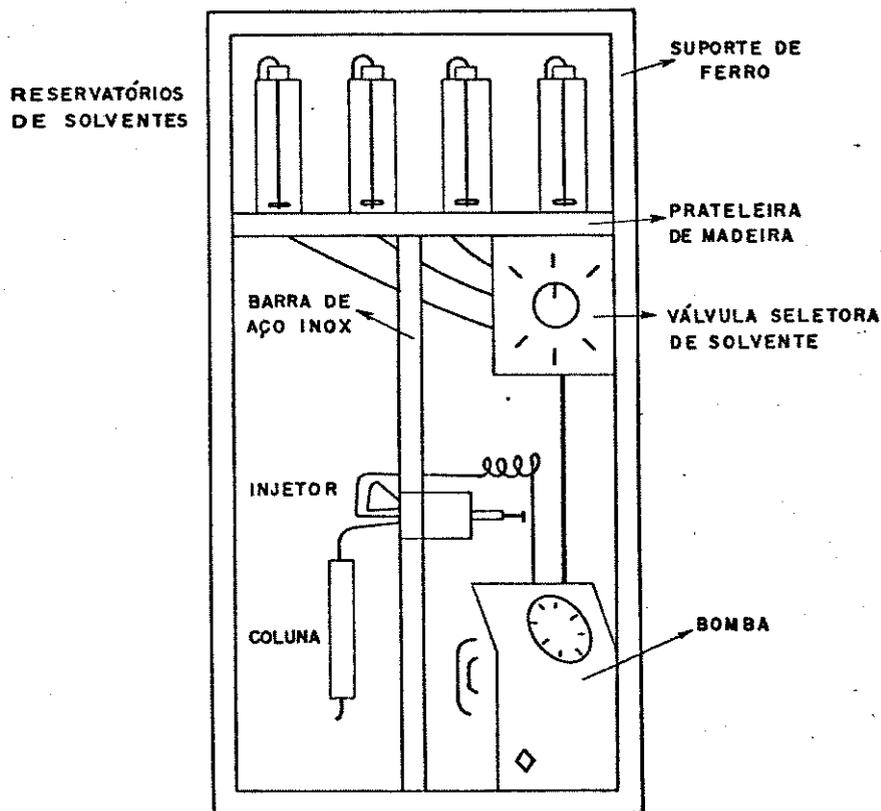


Figura 6- Esquema detalhado do sistema HPLC

### 1.1.1 - Colunas

Todas as colunas utilizadas foram de aço inox 316, confeccionadas no próprio IQ.

As dimensões e fases estacionárias usadas (descritas na introdução teórica) são:

coluna (a): 120 X 4 mm com Partisil SCX (10  $\mu$ m)

coluna (b): 80 x 5 mm com Partisil SCX (10  $\mu$ m)

coluna (c): 80 X 5 mm com Nucleosil 5SA (5  $\mu$ m)

#### 1.1.1.1 - Enchimento das Colunas

Foram testados os preparos de várias suspensões. A melhor suspensão obtida, ou seja, a aquela com maior tempo de decantação, foi com CCl<sub>4</sub> tanto para Partisil como para Nucleosil.

As fases foram lavadas em tubo de ensaio com isopropanol por três vezes para eliminar as partículas menores e então feita a suspensão com CCl<sub>4</sub>.

Para encher as colunas usou-se um sistema de bombeamento Haskel. A pressão utilizada foi de 5000 psi e o solvente propulsor metanol.

#### 1.1.2 - Injetor

O esquema de funcionamento do injetor Rheodyne é mostrado na figura 7 .

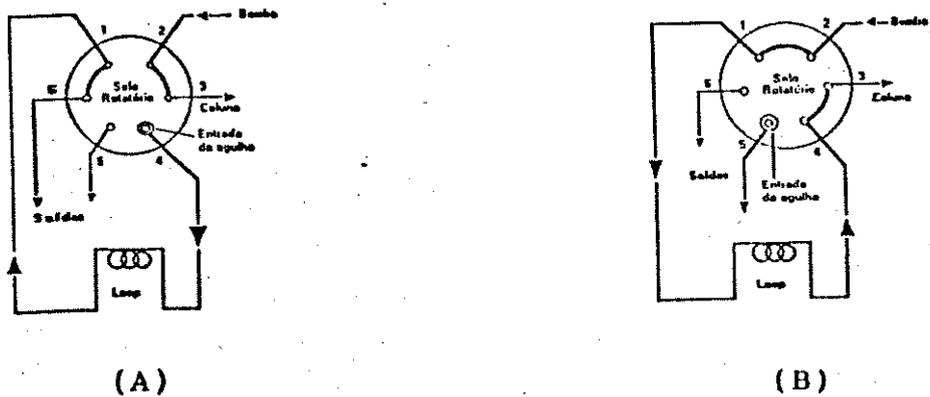


Figura 7- Posição de carregamento (A) e posição de injeção (B) do injetor Rheodyne tipo 8125. Os números indicam posições de conexão.

Esse tipo de injetor permite carregamento total ou parcial do loop. Microseringas são usadas para carregamento total do loop; seringas maiores para o carregamento parcial deste. Foi usado um loop comercial de 10  $\mu$ l de aço inox e outro de 15,2  $\mu$ l feito de tubo de PEEK (poli éter éter cetona) de d.i.= 0,51 mm.

## 1.2 - Sistema de Derivatização

As reações e dimensões iniciais usadas no sistema de derivatização, basearam-se em sistemas FIA (Análise por Injeção de Fluxo) descritas em literatura<sup>(29),(26),(43),(44)</sup>, para determinações de Cr(VI) e Cr total de amostras. As dimensões do sistema foram modificadas, a partir de testes descritos nos resultados. As reações estão melhor descritas no item relacionado a preparo de soluções do sistema de derivatização (2.4 desta parte).

### 1.3 - Sistemas de Detecção

A maioria dos testes foram feitos com um fotômetro simples para FIA (Análise por Injeção de Fluxo). Para alguns testes, foram usados espectrofotômetros comerciais. Foi utilizada detecção radioquímica para avaliar a detecção fotométrica.

#### 1.3.1 - Fotômetro Simples para FIA

Na maioria dos experimentos foi utilizado um fotômetro simples para FIA<sup>(45)</sup> montado no próprio laboratório.

Este detector foi montado dentro de uma caixa de madeira com vista frontal indicada na figura 8 :

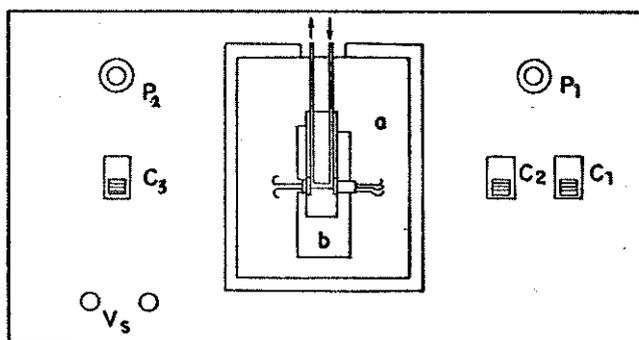


Figura 8- Vista frontal do Fotômetro Simples para FIA, onde  $P_1$  e  $P_2$  são potenciômetros de fio para controle da intensidade de emissão do DEL e para balanceamento da ponte de Wheatstone, respectivamente;  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$  são chaves para ligar e desligar o circuito do DEL (Diodo Emissor de Luz), selecionar a região de comprimento de onda de emissão e ligar/desligar o circuito de detecção, respectivamente.  $V_s$  é saída para o registrador potenciométrico.

Vê-se que, na parte central da caixa, fica um conjunto cela (por onde passa a solução)/suporte, esquematizado mais detalhadamente na figura 9 .

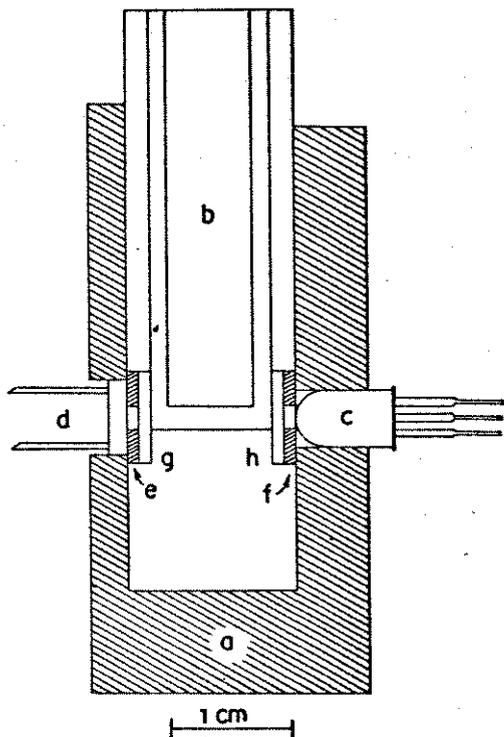


Figura 9- Esquema do conjunto cela/suporte do fotômetro simples, onde a é suporte de acrílico; b é cela de detecção; c é DEL; d é fotorresistor, f e e, anteparo opaco; g e h, janelas de vidro.

Esse suporte e a cela foram construídos com blocos de acrílico cortados, colados e pintados de preto-fosco. O perfeito encaixe para esse conjunto é essencial para o bom funcionamento do detector, pois só assim não ocorre penetração de luz no sistema. Na figura 10, pode-se ver mais detalhadamente a cela.

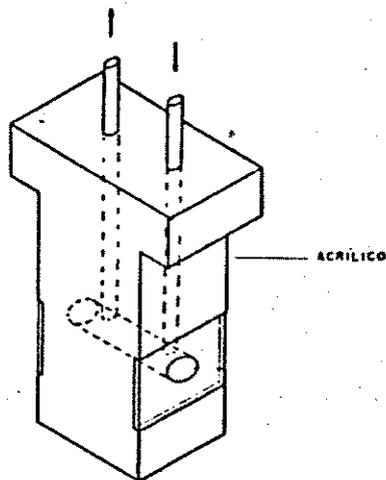


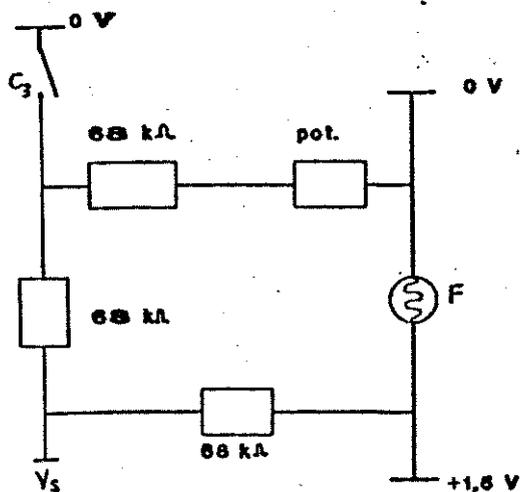
Figura 10- Cela de Fluxo de acrílico.

O volume da cela é de  $80 \mu\text{l}$ ; o caminho óptico de 1 cm e o diâmetro do caminho óptico de 3 mm.

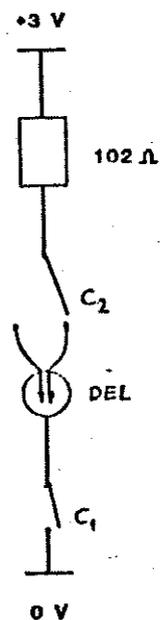
Foi escolhido um fotoresistor de forma que a luz incidisse na maior área possível deste, ou seja, de diâmetro pouco menor que o do caminho óptico da cela, para que este trabalhasse com sua máxima eficiência.

Foi colocado um DEL bicolor (verde e vermelho), mas foi usado somente o verde (540 nm) para os experimentos realizados.

Os esquemas da ponte de Wheatstone e da fonte de alimentação do DEL estão mostradas na figura 11 .



(A)



(B)

Figura 11- Circuitos da ponte de Wheatstone (A) e de alimentação do DEL (B)

### 1.3.2 - Espectrofotômetros

Os espectrofotômetros comerciais utilizados foram:

- Schoeffel- modelo SF770 - detector de HPLC por absorvância no ultra-violeta e visível, com comprimento de onda variável, cela de 8  $\mu$ l e 10 mm de caminho ótico.

- ISCO V<sup>4</sup> - detector por absorvância. no UV-vis., com comprimento de onda variável, cela de 5,3  $\mu$ l e 5 mm de caminho ótico.

### 1.3.3 - Detector de Raios-gama

Esse detector é um sistema monocanal constituído por:

- Fonte de alta voltagem ORTEC - modelo 456
- Amplificador ORTEC - modelo 570
- Analisador Monocanal HP - modelo 5583A
- Contador/cronômetro ORTEC - modelo 776
- Detector tipo poço de cristal de NaI/Tl

A Figura 12 mostra a vista frontal do equipamento.

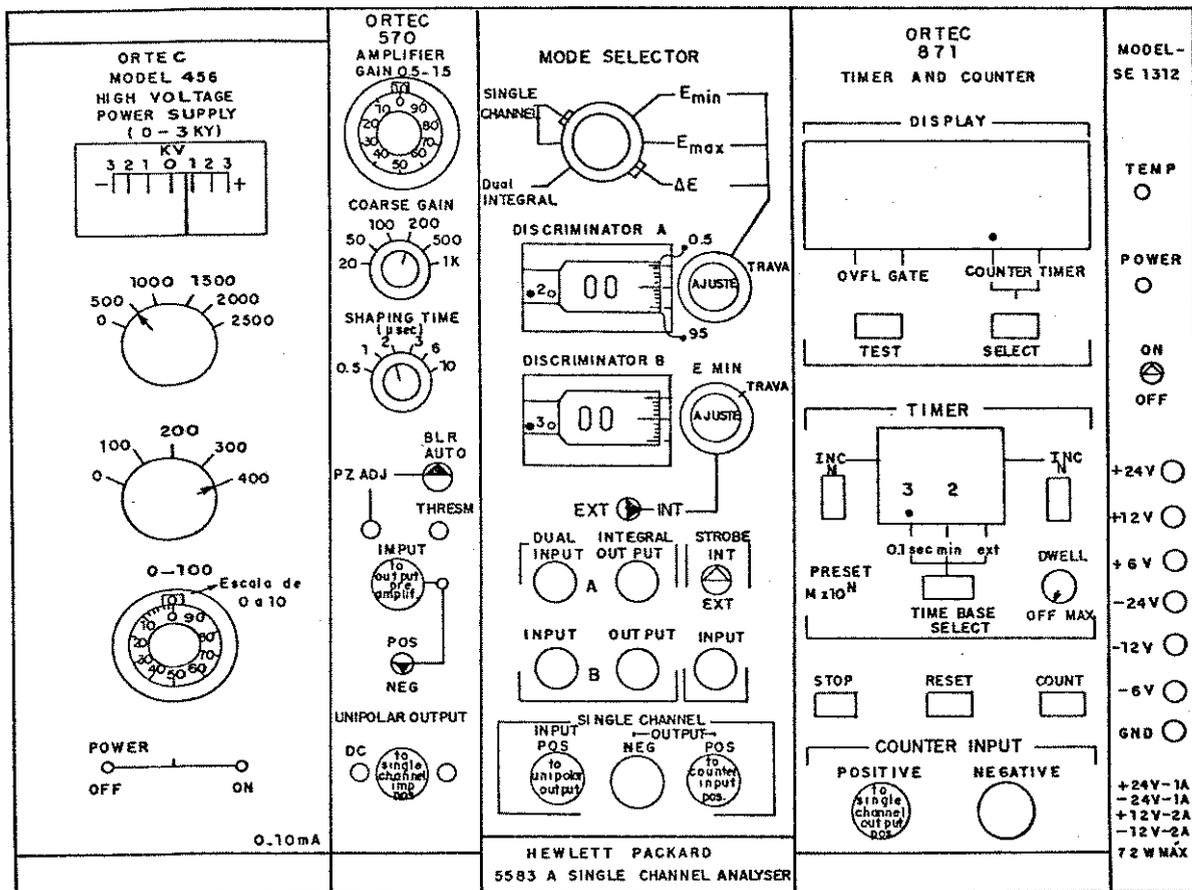


Figura 12- Vista frontal do sistema de contagem de raios-γ

Foi utilizado para os testes apenas o radionuclídeo  $^{51}\text{Cr}$  em alta pureza radioisotópica e radionuclídica. Seu decaimento envolve a emissão de fótons gama de 0,320 MeV<sup>(32),(33)</sup>. Para otimização dos parâmetros do sistema monocanal modular para análise de  $^{51}\text{Cr}$ , obteve-se o gráfico de pulsos do detector NaI(Tl), segundo o procedimento:

- O sistema monocanal foi ajustado segundo as condições da tabela 5.

- Uma amostra padrão de  $^{51}\text{Cr}$  foi colocada num tubo de contagem e inserida no poço do cristal de cintilação.

- Para cobrir toda a escala de voltagem, escolheu-se uma janela fina ( $\Delta E$ ) correspondente a 2% da escala total (0 a 10V), portanto  $E=0,2000$  V (quando o "Discriminador A" está em E, o valor indicado neste discriminador deve ser multiplicado por 0,1 para fornecer o valor real).

- O Discriminador de nível inferior,  $E_{\min}$ , foi colocado no seu valor mínimo. Procedeu-se a contagem por 20 segundos.

- Selecionaram-se outros valores para  $E_{\min}$ , procedendo-se à correspondente contagem de atividade para cada  $E_{\min}$ .

Plotou-se, então, contagem, em cpm, versus voltagem,  $E_{\min}$  e, a partir do gráfico mostrado na Figura 13 definiu-se a seguinte janela: Discriminador A= 6 e Discriminador B=4.

Tabela 5: Condições do aparelho para obtenção da curva de velocidade de contagem versus voltagem para  $^{51}\text{Cr}$ .

Parte do aparelho	Variável	Condição ajustada
Pré-amplificador	"input capacitance"	100 pF
Fonte de Alta Voltagem	Voltagem	900 V
Amplificador	ganho ajuste fino	1,0
	ajuste grosso	80
	"Shaping time"	0,5 $\mu\text{seg}$
	"Base Line Restorer"(BLR)	em auto
	"Input"	em negative
Analisador Monocanal	"Seletor mode"	em Emax
	"Discriminador A" E	6,0
	"Discriminador B" Emin	em interno e
		variando de 0 a 10
Contador de tempo	Tempo de contagem	20 seg.

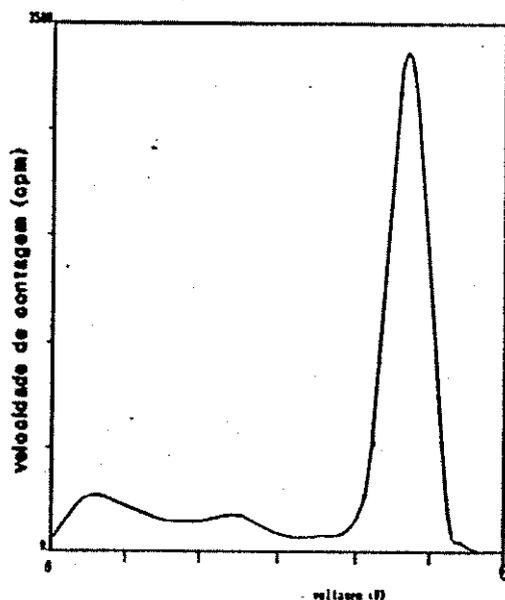


Figura 13- Espectro de altura de pulsos para o  $^{51}\text{Cr}$  (velocidade de contagem, em cpm, versus voltagem) obtido usando-se o poço do detector de NaI(Tl) do laboratório.

Nessas condições, somente os pulsos com amplitude nesse intervalo de 4 a 6 Volts são contados. A contagem efetuada dessa forma é chamada monocanal.

Cada amostra foi tipicamente contada duas vezes consecutivas. O tempo de contagem foi determinado pela atividade total da amostra. Para cada contagem foi descontado o ruído de fundo (background).

A determinação do ruído de fundo foi feita através da média de dez contagens de um tubo de ensaio vazio, nas condições análogas às contagens da amostra.

## 1.4 - Outros Instrumentos

Coletor de frações ISCO - modelo 328

pHmetro Orion Research - modelo 301

## 2 - Soluções

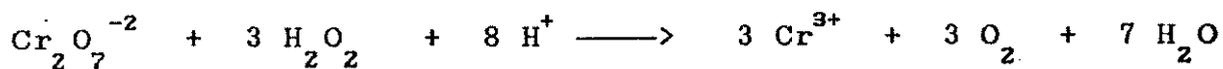
### 2.1 - Soluções de Cr(VI)

Partiu-se de  $K_2Cr_2O_7$  (G.F. Smith, padrão primário) e fez-se diluição com  $HClO_4$   $10^{-2}$  M até a concentração final desejada.

### 2.2 - Soluções de Cr(III)

#### 2.2.1 - $Cr(H_2O)_6^{3+}$

As soluções de  $Cr(H_2O)_6^{3+}$  foram preparadas a partir da redução de soluções de dicromato de potássio com água oxigenada 30%.



As soluções de dicromato em meio ácido ( $HClO_4$ ,  $10^{-4}$  M) resfriadas ( $-4^\circ C$ ) adicionou-se  $H_2O_2$  lentamente, para minimizar polimerização.

A solução obtida apresentou  $pH \cong 1$  e coloração violeta,

correspondente à espécie monomérica  $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ . O excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o  $\text{O}_2$  produzidos foram eliminados deixando a solução em contato com 100  $\mu\text{g}$  de negro de platina (Aldrich) por 8 h, sob agitação, para ocorrer oxidação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e posteriormente filtrada em membranas de teflon com poros de 5  $\mu\text{m}$ , para eliminar as partículas de platina.

Fez-se então as diluições necessárias para as concentrações desejadas, com  $\text{HClO}_4$   $10^{-2}$  M.

### 2.2.2 - Solução de Espécies Hidrolíticas de Cr(III)<sup>(27)</sup>

Partiu-se de solução de perclorato de cromo 0,05 M, pH=1, preparada conforme descreve o item 2.2.1.

Adicionou-se a essa solução, lentamente e sob agitação, solução de NaOH 3 M até pH 3 a 4, controlado por um pHmetro.

### 2.2.3 - Solução de Espécies Hidrolíticas de Cr(III) Marcada com $^{51}\text{Cr}$

Para preparação de amostras contendo  $^{51}\text{Cr}$ , adicionou-se o menor volume possível de perclorato de  $^{51}\text{Cr}$  a uma alíquota de solução de hexaaquo de Cr(III), de forma a obter-se um valor razoável de contagem e, a seguir, adicionou-se NaOH da forma descrita no item 2.2.2.

Um valor razoável de contagem significa um valor que possa ser contado o menor pico do cromatograma (os tubos que a ele correspondem) em um tempo de 1 ou 2 minutos. Para isso é necessário ser levado em

consideração: atividade da solução de  $^{51}\text{Cr}$  que será usada como traçador, volume de injeção, diluição total desse volume pela coluna e pelo sistema de derivatização, porcentagens de atividade que sairá em cada pico e volume que será coletado em cada tubo que será contado.

A quantidade de solução de  $^{51}\text{Cr}$  deve diluir o mínimo possível a amostra, para que não prejudique a detecção fotométrica, como veremos adiante.

Foi também feito um teste em que o traçador foi adicionado após a adição da base.

### 2.3 - Fases Móveis

As fases móveis foram todas preparadas pela titulação de  $\text{CaCO}_3$  com  $\text{HClO}_4$  concentrado e controlado o pH para 2 com um pHmetro. Esse pH baixo é necessário para que as espécies hidrolíticas sejam eluídas na sua forma protonada. As fases foram:

$S_1$  :  $\text{HClO}_4$  0,01 M

$S_2$  :  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  0,10 M pH=2 ( $\text{HClO}_4$ )

$S_3$  :  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  0,25 M pH=2 ( $\text{HClO}_4$ )

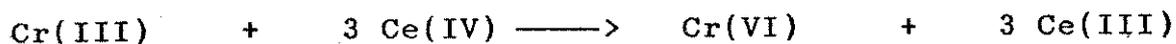
$S_4$  :  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  0,50 M pH=2 ( $\text{HClO}_4$ )

$S_5$  :  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  1,00 M pH=2 ( $\text{HClO}_4$ )

## 2.4 - Soluções para o Sistema de Derivatização

### 2.4.1 - Reação de Oxidação

A reação de oxidação que ocorre no sistema é:



Escolheu-se essa reação por ser conveniente para simplicidade do desenho do sistema e ser a mais usada em literatura<sup>(26),(29),(43)</sup>.

A reação ocorre em meio ácido<sup>(46)</sup>. Não é aconselhado o uso de ácido sulfúrico porque os íons sulfato podem complexar o Cr(III),<sup>(26),(47)</sup> diminuindo a eficiência da oxidação. Optou-se, então, pelo ácido nítrico.

#### Soluções de Ce(IV):

Essas soluções foram preparadas a partir de uma solução comercial de Sulfato de Cério (IV) (Carlo Erba) 0,1 M em  $\text{H}_2\text{SO}_4 \simeq 0,5 \text{ M}$ .

- (a) Ce(IV) 0,5 g/l ( $0,36 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) em  $\text{HNO}_3 \simeq 0,15 \text{ M}$ :

Pipetou-se 3,6 ml da solução comercial de Sulfato de Cério(VI), adicionou-se 1 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado e diluiu-se para 100 ml.

- (b)  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  0,025% ( $7,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4 \simeq 0,07 \text{ M}$

Pipetou-se 0,75 ml da solução comercial de Sulfato de Cério (IV), adicionou-se 0,4 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado e diluiu-se para 100 ml.

- (c) Ce(IV) 1,0 g/l ( $0,72 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) em  $\text{HNO}_3$  0,15 M

Pipetou-se 7,2 ml da solução comercial de Sulfato de Cério (IV), adicionou-se 1 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado e diluiu-se para 100 ml.

- (d) Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0,05% (15,0.10<sup>-4</sup>M) em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ≈ 0,07 M

Pipetou-se 1,5 ml da solução comercial de Sulfato de Cério (IV), adicionou-se 0,4 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e diluiu-se para 100 ml.

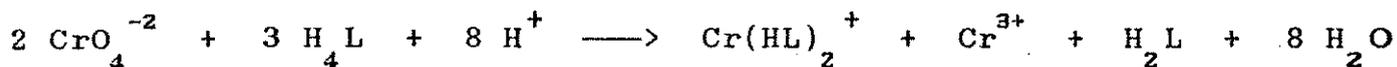
- (e) Ce(IV) 0,5 g/l em HClO<sub>4</sub> 0.1 M

Pipetou-se 3,6 ml da solução comercial de Sulfato de Cério (IV), adicionou-se 1 ml HClO<sub>4</sub> concentrado e diluiu-se para 100 ml.

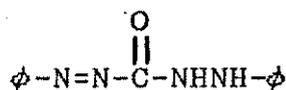
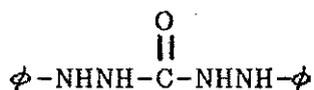
#### 2.4.2 - Reação de Complexação

A reação de complexação de Cr(VI) com difenilcarbazida vem sendo extensivamente usada para determinação espectrofotométrica de Cromo, devido a alta absorvidade a 540 nm do complexo formado.

A reação que ocorre é: <sup>(28),(48),(49)</sup>



Onde H<sub>4</sub>L é difenilcarbazida e H<sub>2</sub>L é difenilcarbazona.



A concentração da solução usada foi a de concenso em toda

literatura<sup>(29),(43),(49),(50)</sup> nos sistemas FIA para determinação de Cromo: solução de DFC 0,05% preparada pesando-se 0,005 g de DFC, dissolvendo-se na menor quantidade possível de acetona e diluindo-se para 100 ml com água. Essa solução sempre foi deaerada a vácuo para evitar que provocasse a formação de bolhas no sistema devido a acetona presente.

Para a solução carregador, foi usado  $\text{HNO}_3$  0,08 M, embora  $\text{H}_2\text{SO}_4$  seja especificado nos procedimentos convencionais, porque este mostrou sensibilidade maior, comparado com os ácidos clorídrico e perclórico.<sup>(50)</sup>

## V - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1 - Testes Preliminares

#### 1.1 - Curva de Calibração com o Sistema FIA

Para esse teste foi usado somente o sistema de derivatização, com configuração mostrada na figura 14. O sistema ainda não havia sido otimizado, mas foi possível obter-se informação a respeito da faixa de linearidade de detecção.

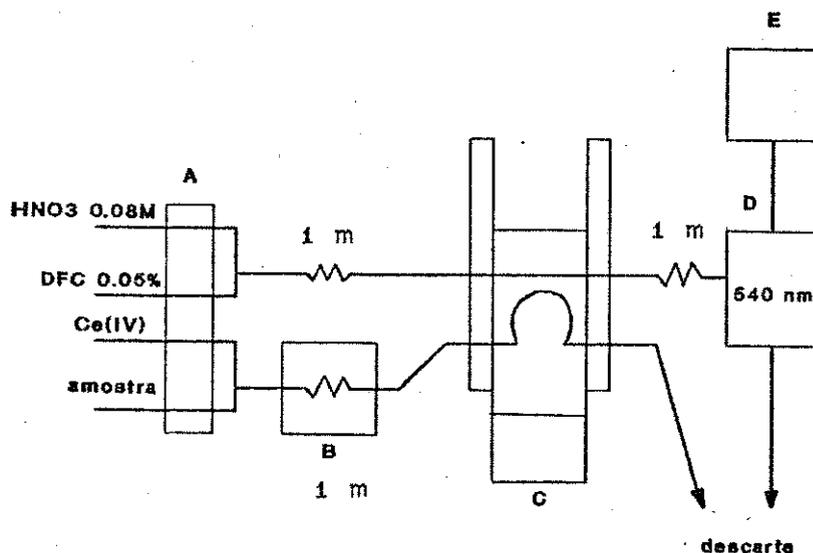


Figura 14- Esquema do sistema de derivatização, onde: A é bomba peristáltica; B é banho termostático; C é injetor, em posição de carregamento de amostra; D é detector e E é registrador. (vazão em cada entrada da bomba= 0,4 ml/min),

Foram feitas injeções em triplicata de Cr(III) hexaaquo puro na faixa de concentração de 1 a 80 ppm. Os registros obtidos são mostrados na figura 15, e os resultados na tabela 6 e na figura 16.

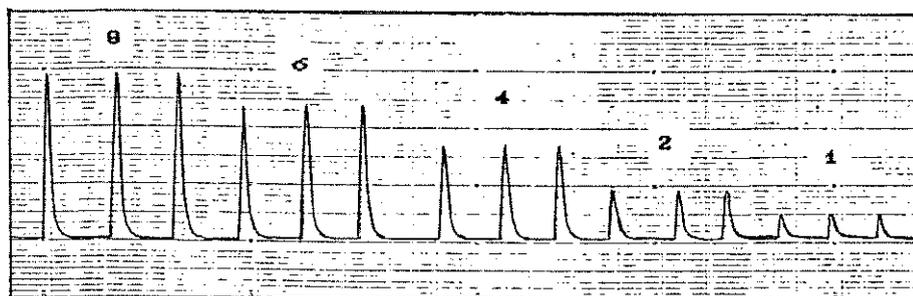
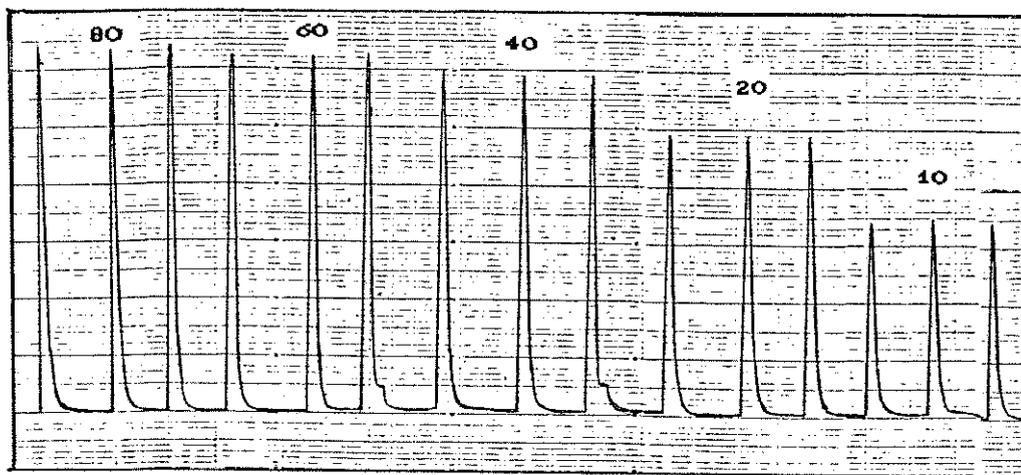


Figura 15- Registros obtidos das injeções em triplicata de soluções de Cr(III) no sistema FIA mostrado na figura 14 (concentrações em ppm).

Tabela 6 : Alturas obtidas nos registros da fig. 15 vs. concentração de Cr(III)

[Cr(III)] ppm	h (altura) (cm) *
1	1,10
2	2,20
4	4,15
6	5,95
8	7,37
10	8,60
20	12,25
40	14,73
60	15,70
80	16,17

\* altura equivalente a um prato teórico

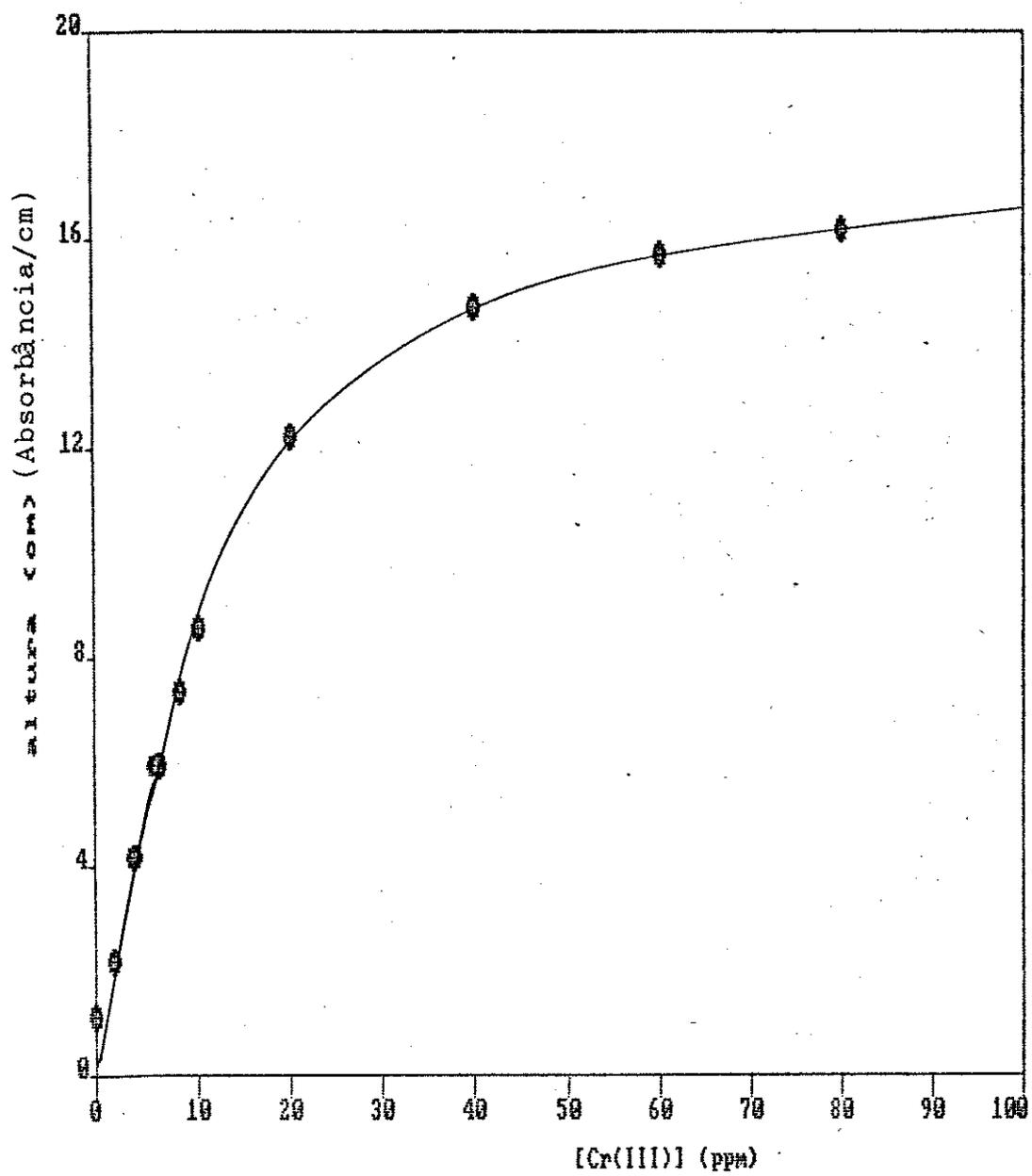


Figura 16- Altura vs. concentração de Cr(III), construído com os dados da tabela 6.

Notamos, pela figura 16, uma faixa de linearidade de até 10 ppm.

Deve-se lembrar que, no sistema completo montado, ocorre diluição da amostra injetada durante a eluição da coluna. A faixa poderá ser, portanto, maior nesse caso. Essa curva de calibração não poderá ser usada para determinação de concentrações de amostras injetadas na coluna.

### 1.2 - Verificação de interferência das fases móveis

Queremos fases móveis que não interfiram na detecção. Testou-se, então, para concentração de Cr(III) de 4 ppm (intermediária na faixa linear), várias concentrações de  $\text{HClO}_4$  e de  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  que seriam usadas como fase móvel. Os resultados obtidos são mostrados nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7 : Alturas dos registros obtidos com o sistema da figura 14, para  $[\text{Cr(III)}] = 4$  ppm e várias concentrações de  $\text{HClO}_4$ .

$[\text{HClO}_4]$ (M)	altura de pico (cm)	variação em relação ao 1 <sup>o</sup> valor
0	4,15	0
$10^{-2}$	4,05	2,5
$10^{-1}$	3,92	6,0
1	2,67	55,6

Tabela 8 : Alturas dos registros obtidos com o sistema da figura 14, para  $[\text{Cr(III)}] = 4 \text{ ppm}$  e várias concentrações de  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ .

$[\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2]$ (M)	altura do pico (cm)	variação em relação ao 1º valor
0	4,05	0
0,05	3,60	12,5
0,10	3,62	11,9
0,25	3,67	10,4

Vemos que, para  $[\text{HClO}_4]$  maior que  $10^{-1} \text{ M}$ , começa a ocorrer interferência, e para  $[\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2]$  até  $0,25 \text{ M}$ , ocorre pequena interferência. Mais tarde esse mesmo teste pôde ser verificado em  $[\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2]$  de  $0,50 \text{ M}$ , com acompanhamento radioquímico dos cromatogramas.

### 1.3 - Verificação da Resposta do Sistema Detector/Registrador

Esse teste foi feito com a coluna acoplada ao sistema. Foram injetadas amostras de  $10 \mu\text{l}$  numa faixa de concentração de  $10^{-2}$  a  $10^{-4} \text{ M}$ . Para cada concentração foram testadas duas atenuações (as melhores para obtenção dos respectivos picos) e comparados os fatores de correção entre essas atenuações, como indica a tabela 9.

Tabela 9 : Áreas obtidas para diferentes concentrações de cromo em diferentes fundos de escala do registrador:

conc. (mol/L)	Área (cm <sup>2</sup> )					fator esp.	fator obtido	Er* %
	20 mV	50 mV	100mV	200mV	500mV			
10 <sup>-2</sup>	—	—	—	15,56	6,42	2,50	2,42	3,3
0.5.10 <sup>-2</sup>	—	—	—	8,86	3,61	2,50	2,46	1,6
10 <sup>-3</sup>	—	8,44	4,77	—	—	2,0	1,80	11,1
10 <sup>-4</sup>	17,14	6,64	—	—	—	2,5	2,58	3,2

\* Er= erro relativo entre o fator esperado e o fator obtido

Os resultados foram bons e indicam que, considerados os erros relativos, é possível ser feita mudanças de fundo de escala no meio de um cromatograma.

## 2 - Otimização do Sistema de Derivatização

Para esses testes foi usado o equipamento completo e um loop de 10 µl no injetor. Foram injetadas soluções de Cr(III) hexaaquo puro, 0,054 M.

### 2.1 - Comprimento da Bobina de Oxidação

Foram testados os comprimentos mostrados na tabela 10 e escolhida então uma bobina de 1 m.

Tabela 10 : Alturas de pico obtidas com variação de comprimento de bobina de oxidação:

compr. da bobina (cm)	50	100	250
altura do pico (cm)	10,9	12,6	12,4

## 2.2 - Temperatura do Banho

A Tabela 11 mostra as temperaturas testadas. Foi adotado 45° C.

Tabela 11 : Alturas de picos obtidas com variação da temperatura do banho termostático.

temperatura (°C)	45	55	65
altura do pico (cm)	15,0	14,6	14,7

À temperatura de 65° C começa a ocorrer formação de bolhas no sistema, o que dificulta a detecção<sup>(26)</sup> e não mostrou melhora neste sistema.

### 2.3 - Concentração da Solução de Cério(IV)

As concentrações sugeridas na literatura foram de 0,5 g Ce(IV)/l em  $\text{HNO}_3$  0,15 M<sup>(49)</sup> e 0,025%  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,07 M.<sup>(26)</sup> Foram testadas variações dessas concentrações e variações do ácido utilizado. Os resultados estão na Tabela 12.

Tabela 12 : Alturas de pico obtidas com variação da solução oxidante utilizada.

solução	altura do pico (cm)
(a) $(0,36 \cdot 10^{-4} \text{ M})$ 0,5 g Ce/l em $\text{HNO}_3$ 0,15 M	15,0
(b) $(7,5 \cdot 10^{-4} \text{ M})$ 0,025% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,07 M	12,6
(c) $(0,72 \cdot 10^{-4} \text{ M})$ 1,0 g Ce/l em $\text{HNO}_3$ 0,15 M	14,1
(d) $(15,0 \cdot 10^{-4} \text{ M})$ 0,05% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,07M	14,2
(e) $(0,36 \cdot 10^{-4} \text{ M})$ 0,5 g Ce/l em $\text{HClO}_4$ 0,1 M	14,3

A solução (a) foi tomada como a melhor. A solução (e) se mostrou instável em meio de  $\text{HClO}_4$ , mudando de coloração em alguns dias, provavelmente devido a hidrólise do Ce(IV).

### 3 - Corridas Cromatográficas

Com o equipamento descrito e otimizado foram obtidos cromatogramas de soluções de Cr(III) hidrolisado, preparadas segundo o item 2.2.2 da parte experimental. As colunas sempre foram condicionadas com  $S_1$  durante uma noite antes de serem usadas, e, antes de cada injeção, passadas as quatro fases móveis para se evitar interferência devido a memória na coluna. Foram feitos testes variando-se a velocidade da injeção, que é manual, o qual não mostrou diferenças significativas. Procurou-se então, injetar sempre da mesma maneira.

Os cromatogramas típicos obtidos com as colunas (a), (b) e (c), descritas no item 1.1.1 da parte experimental são mostrados nas figuras 17, 18, 19 e 20.

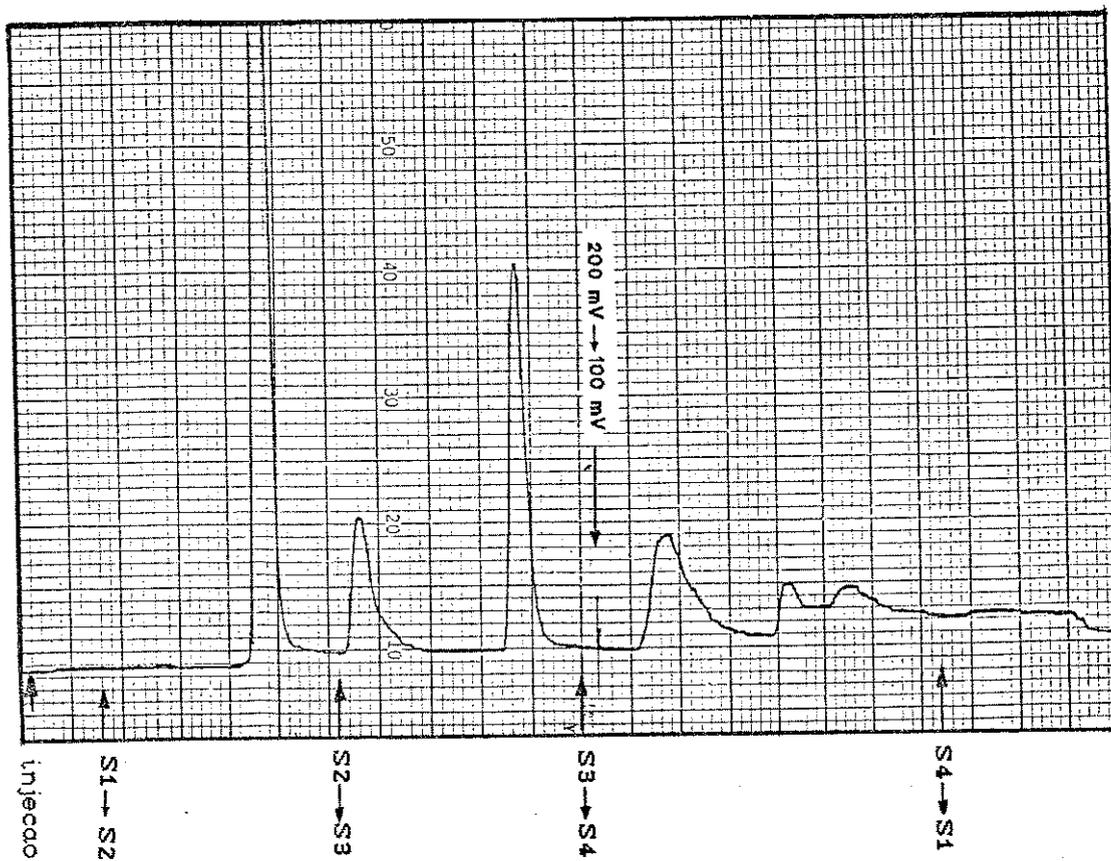


Figura 17- Cromatograma obtido com a coluna (a) e :  $V_i = 8 \mu\text{l}$ , vazão = 1,6 ml/min, atenuação = 200 mV, vel. papel = 20 cm/h. ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ; tempo total = 60 min)

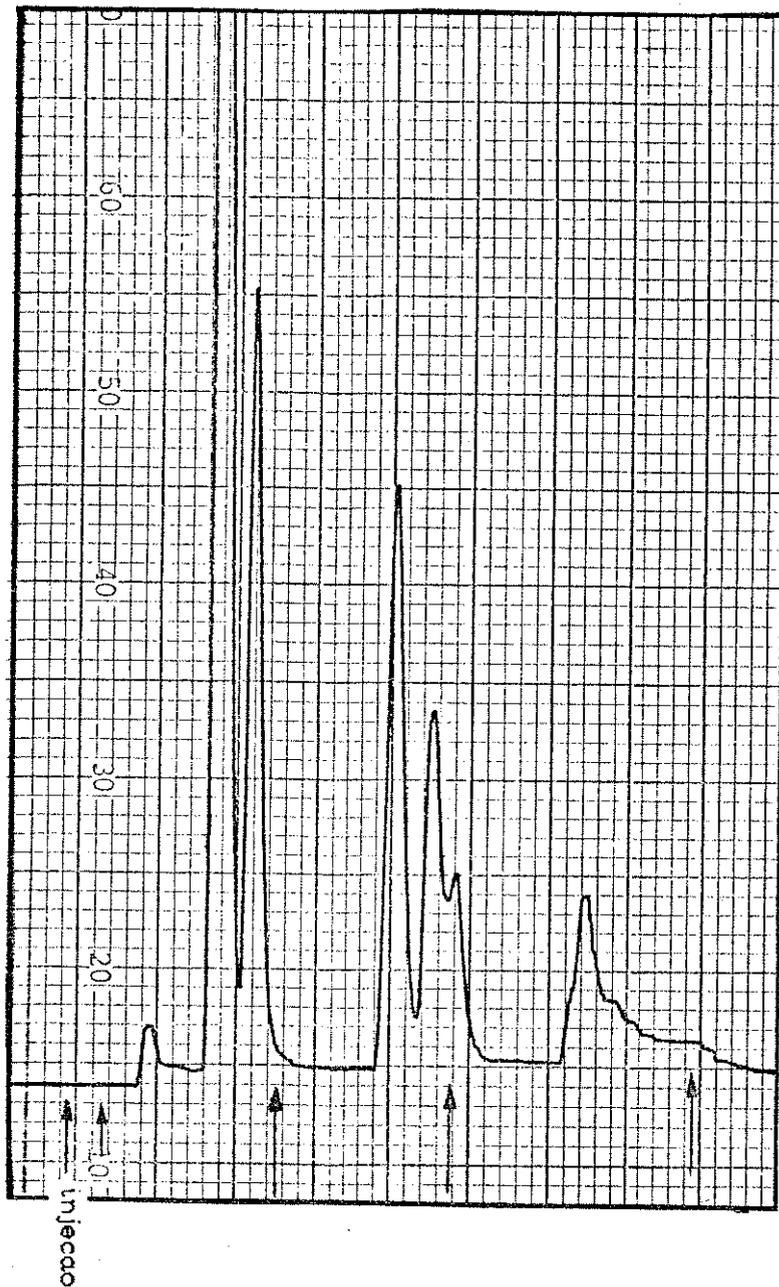


Figura 18- Cromatograma obtido com a coluna (b) e:  $V_i = 8 \mu\text{l}$ , vazão = 1,45 ml/min, atenuação = 200 mV, vel. papel = 20 cm/h. ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ; tempo total = 25 min)

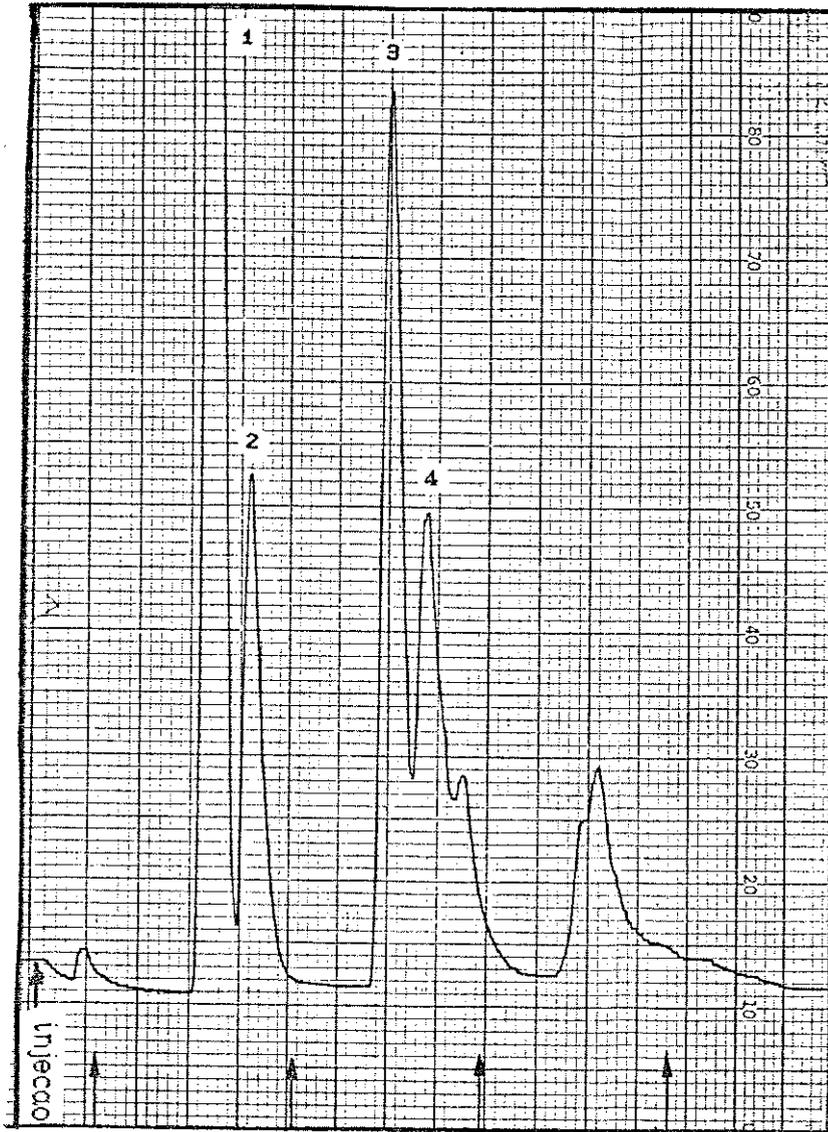


Figura 19- Cromatograma obtido com a coluna (b) e :  $V_i = 10 \mu\text{l}$ , vazão = 1,6 ml/min, atenuação = 200 mV, vel. papel = 30 cm/h ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ; tempo total = 32 min)

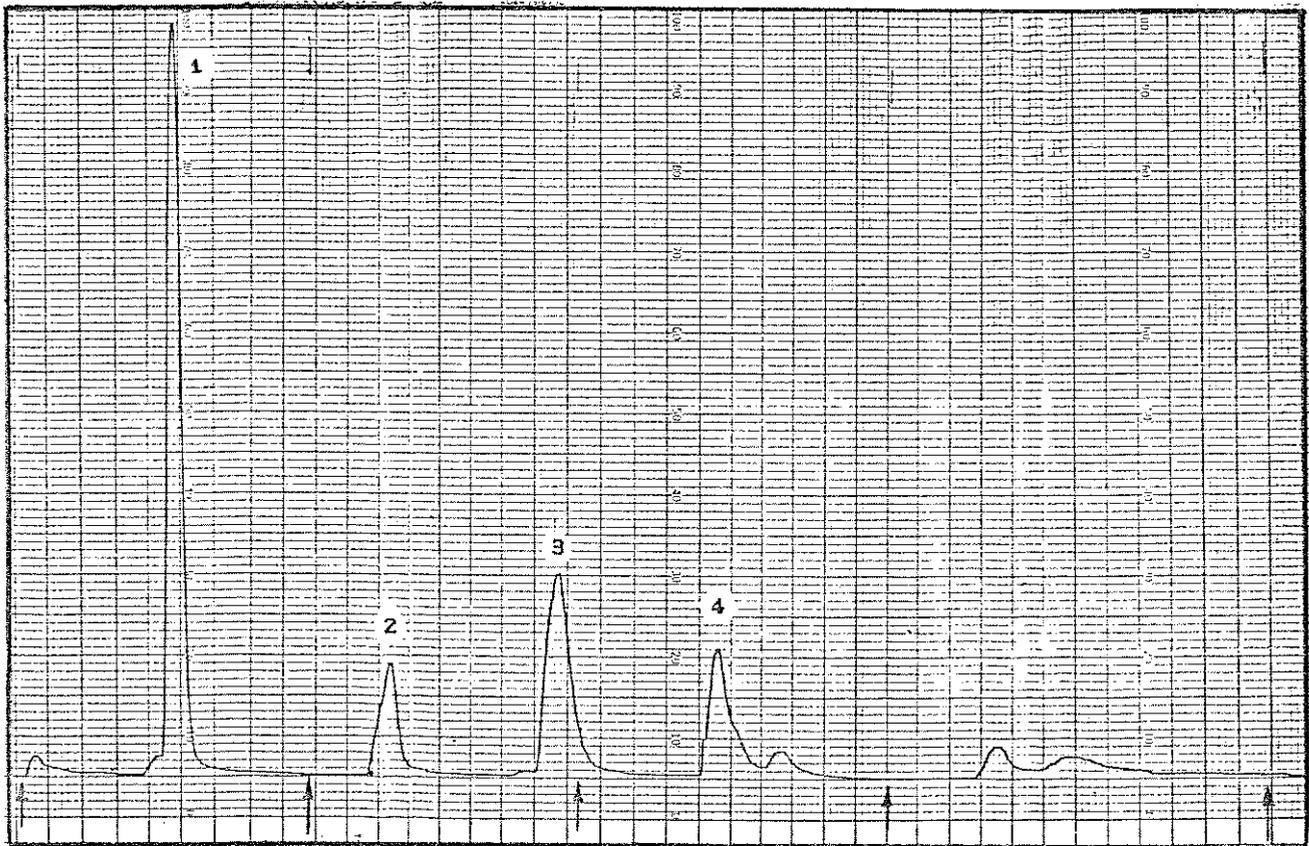


Figura 20- Cromatograma obtido com a coluna (c) e :  $V_i = 6 \mu\text{l}$ ; vazão = 1,6 ml/min, atenuação = 200 mV, vel. papel = 30 cm/h. ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ; tempo total = 90 min),

#### 4 - Curvas de Calibração para Cr(VI) e para Cr(III)

Para esse teste foram injetadas, separadamente, amostras de Cr(VI) e de Cr(III), nas mesmas concentrações. A coluna usada foi a (b). Os registros obtidos são mostrados na figura 21. As áreas, por método de pesagem, obtidas a partir desses registros, são apresentadas na tabela 13 e as curvas de calibração na figura 22.

Tabela 13: Valores de área obtidos para soluções de Cr(III) e de Cr(VI), numa faixa de concentração de  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$  M.

concentração (mol/l)	área de pico( $\text{cm}^2$ ) para Cr(VI)	área de pico( $\text{cm}^2$ ) para Cr(III)
$10^{-2}$	43,65	38,70
$0,5 \cdot 10^{-2}$	23,82	20,70
$10^{-3}$	6,31	5,75
$10^{-4}$	1,01	0,79

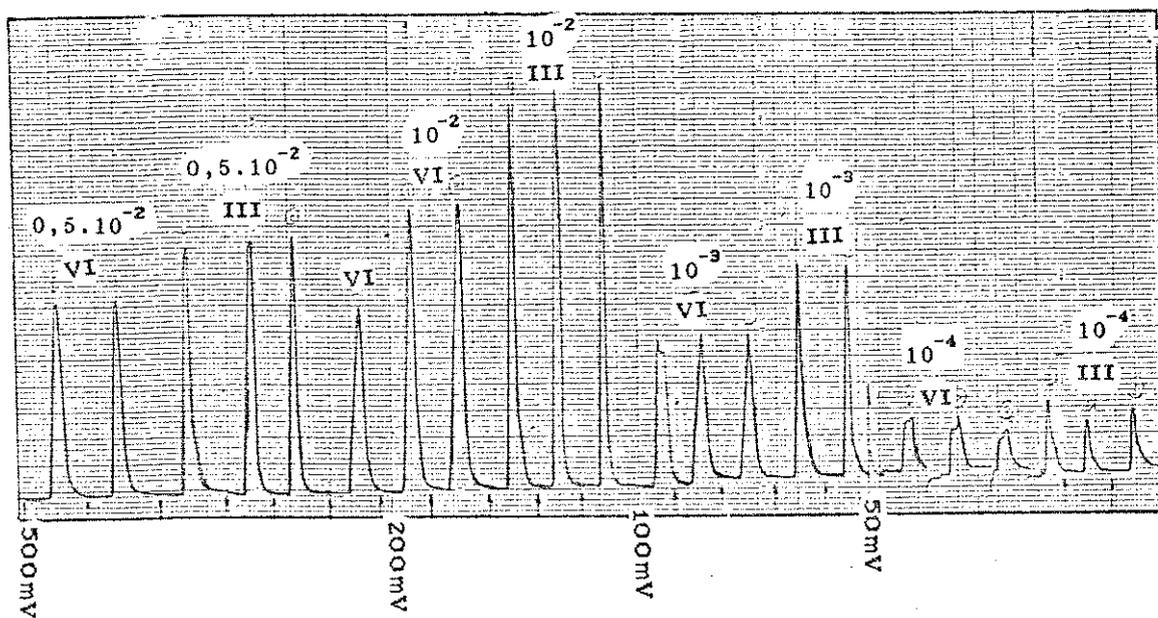


Figura 21- Registros obtidos para injeções de Cr(III) e de Cr(VI)

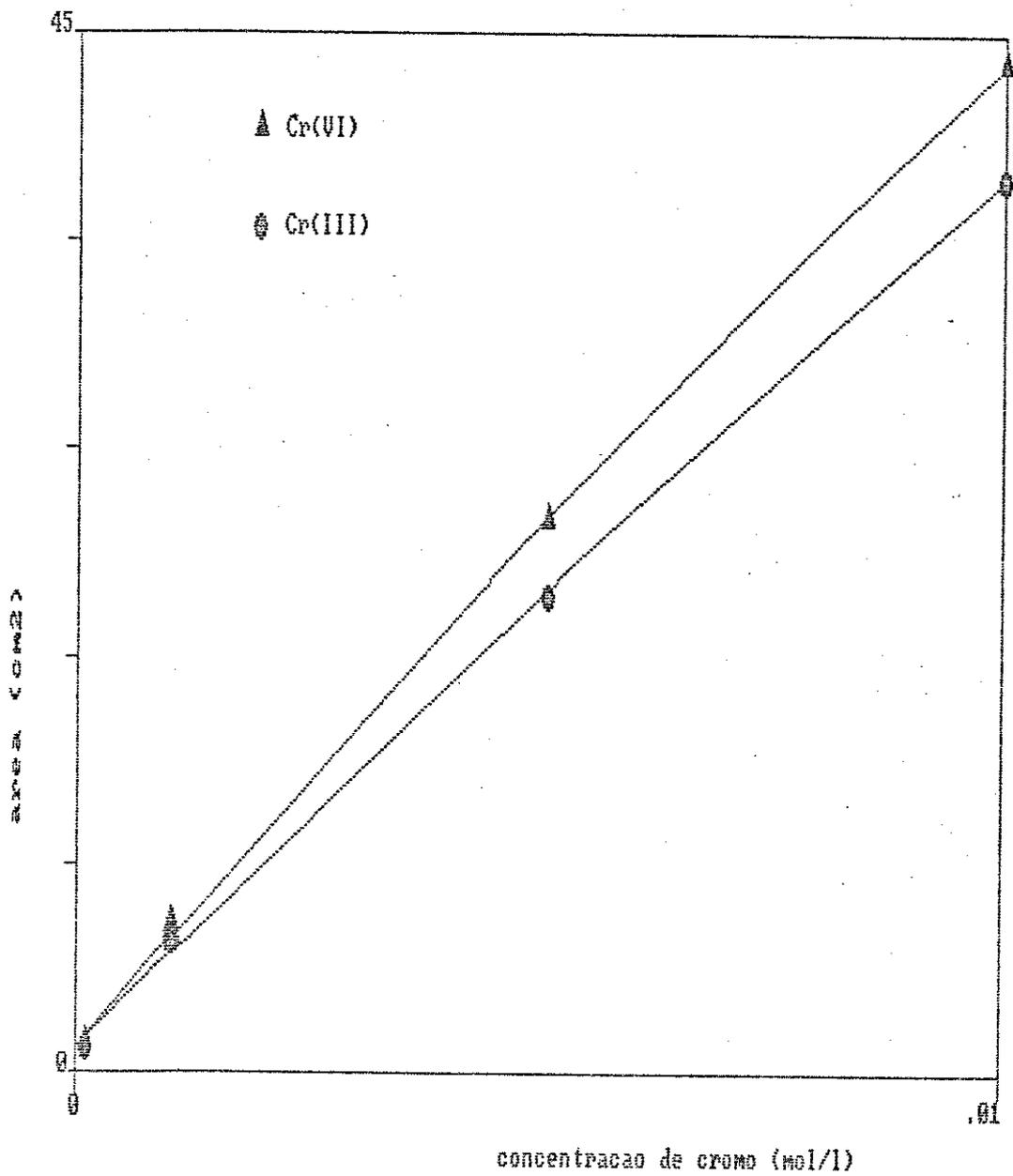


Figura 22- Curvas de calibração para Cr(VI) e para Cr(III)

Temos uma boa linearidade para os dois gráficos, nessa faixa de concentração (correlação de 0,9989 para Cr(VI) e 0,9991 para Cr(III)).

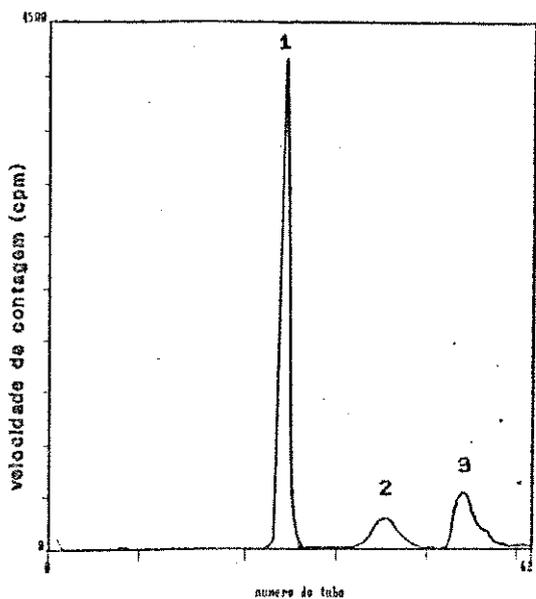
Uma quantificação da eficiência das reações de oxidação e de complexação foi feita pela diferença relativa das inclinações das retas obtidas, que dá um valor de 82%.

#### 5 - Comparações entre o Sistema HPLC e o Sistema Convencional

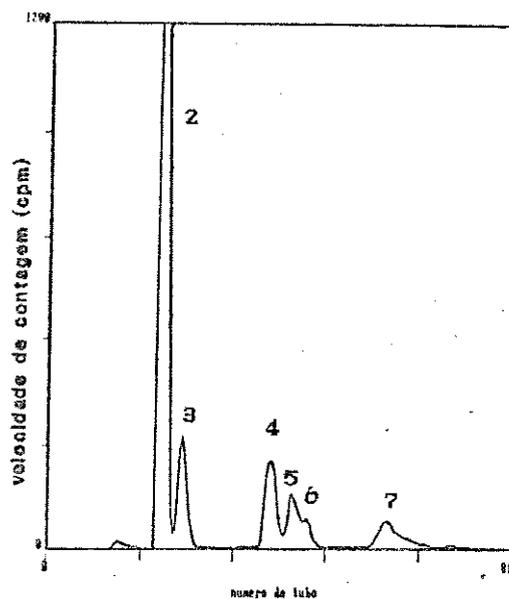
Foi feita injeção de uma amostra de espécies hidrolíticas de Cr(III), marcada com  $^{51}\text{Cr}$ , preparada segundo o item 2.2.3 da parte experimental num sistema convencional. Esse sistema consiste de uma coluna de vidro (0,5 cm d. i.), com 1 ml de resina de troca catiônica Dowex 50WX8, à pressão atmosférica. As fases móveis usadas foram  $\text{HClO}_4$  0,01; 0,1 e 1,0 M;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,25, 5,0 e 1,0 M (pH 2). Foi feita detecção radiométrica de frações ( $\approx$  2,0 ml) usando o detetor de raios-gama descrito no item 1.3.3 da parte experimental.

Esse registro foi comparado com uma injeção da mesma amostra no sistema HPLC e detecção radioquímica de frações de 0,5 ml.

Os resultados obtidos estão na figura 23 e tabela 14.



(A)



(B)

Figura 23- Cromatogramas obtidos com o sistema convencional (A) e o sistema HPLC (B) (coluna b).

Tabela 14 : Porcentagens de atividade obtidas para cada pico dos cromatogramas obtidos na figura 23:

sist.convencional		sist. HPLC	
% atividade	núm.do pico	% atividade	núm.do pico
58,8	1	0,5	1
12,2	2	44,6	2
19,0	3	7,6	3
-		7,8	4
-		4,3	5
-		3,2	6
-		6,9	7
-		-	
10,2	resina	25,0	resina

## 6 - Mudanças de Fases Estacionárias

Esse teste foi feito com a intenção de se melhorar ainda mais o desempenho cromatográfico que vinha sendo obtido.

Foram testadas as colunas (b) e (c), descritas no item 1.1.1 da parte experimental. Com os cromatogramas obtidos, mostrados nas figuras 19 e 20, foram calculados os parâmetros cromatográficos que permitem compará-las, que são mostrados na tabela 15.

Tabela 15: Dados cromatográficos dos cromatogramas das figuras 19 e 20, onde:  $R_s$  é a resolução entre dois picos adjacentes;  $\alpha$  é fator de separação;  $n$  é número de pratos teóricos e  $n/m$  é número de pratos teóricos por metro.

Fase Estacionária	$R_{s12}$	$R_{s34}$	$\alpha_{12}$	$\alpha_{34}$	$n$	$n/m$
Partisil SCX-10 $\mu$ m*	0,79	0,72	1,15	1,08	1482	18525
Nucleosil 5SA-5 $\mu$ m**	6,9	3,73	1,94	1,26	3054	38175

\* cromatograma da Fig. 19

\*\* cromatograma da Fig. 20

Vê-se, pelas figuras 19 e 20, que os mesmos picos obtidos com Partisil são obtidos com Nucleosil, porém, neste último, muito melhor separados. Vale observar que isso elimina suspeitas de que algum

desses picos seja memória da coluna.

De acordo com a tabela 15, o número de pratos teóricos por metro (n/m), que corresponde à eficiência, obtido com a coluna com Nucleosil, é praticamente o dobro do número obtido com Partisil.

### 7 - Comparação entre a Detecção Direta (415 nm) e a Detecção após o Sistema de Derivatização (540nm)

Para realização desse teste foi necessário o uso de um detector comercial, para que fosse possível detectar a 415 nm. Foi usado então o detector espectrofotômetro ISCO, citado no item 1.3.2 da parte experimental.

Foram feitas injeções de 5 µl da espécie monomérica de Cr(III)  $10^{-3}$  M sem o sistema de derivatização ( $\lambda=415$  nm) e com o sistema de derivatização ( $\lambda= 540$  nm). Foi necessário utilizar diferentes ranges no detector. Os picos obtidos são mostrados na figura 24 e as áreas, calculadas por método de pesagem, estão na tabela 16.

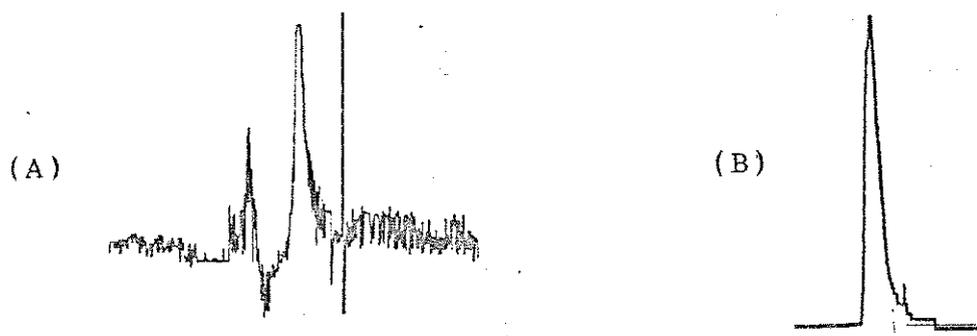


Figura 24- (A) registro obtido com o detector ISCO a 415 nm e range = 0.05; (B) registro obtido a 540 nm e range= 0.2.

Tabela 16 : Comparação das áreas obtidas com o detector ISCO a 415 e a 540 nm.

área a 415 nm (f.e.* = 0,05)	2,47 cm <sup>2</sup>
área a 540 nm (f.e. = 0,20)	4,77 cm <sup>2</sup>
área a 540 nm corrigida p. f.e. = 0,05	19,08 cm <sup>2</sup>
fator de aumento de área	7,72

\* f.e. = fundo de escala

Os limites de detecção (S/N) obtidos com os detectores comerciais ISCO e Shoefel a 415 nm foram da ordem de  $10^{-3}$  M e, com o fotômetro simples, a 540 nm, foi de  $10^{-5}$  M.

Esse fator de  $10^2$  se mostra coerente com um fator da ordem de 10, devido ao aumento do volume da cela, dos detectores comerciais para o fotômetro simples, e um fator de 10 devido ao sistema de derivatização, em concordância com o resultado mostrado na tabela 16.

Isso quer dizer que a vantagem do uso do sistema de derivatização só não é maior devido provavelmente à diluição que ocorre da amostra até chegar ao detector e principalmente a uma geometria inadequada da cela do detector neste caso.

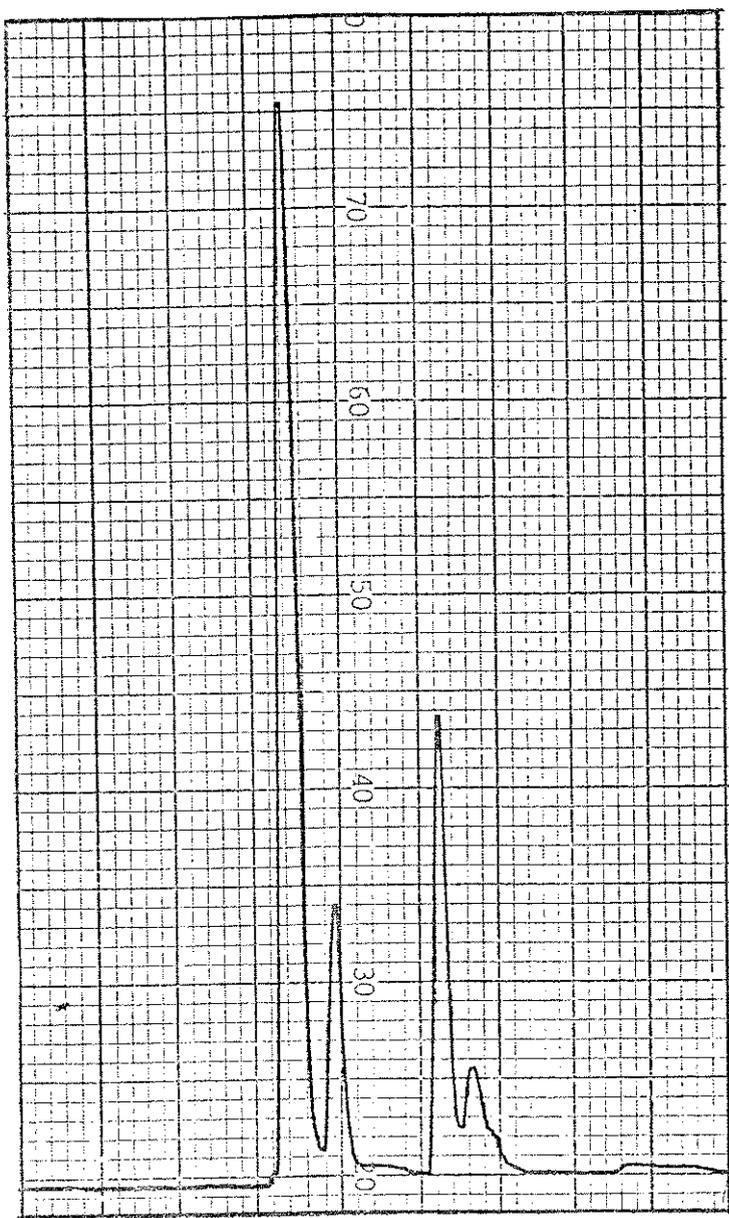
## 8 - Detecções Simultâneas Fotométrica e Radiométrica

Para esses testes foi usado o sistema completo mostrado na figura 5, incluindo o coletor de frações acoplado em vez do descarte. Este foi ajustado para coletar 10 gotas por tubo ( $\approx 0,6$  mL/tubo). Foi injetada amostra de espécies hidrolíticas de Cr(III) marcada com  $^{51}\text{Cr}$ , preparada segundo o item 2.2.3 da parte experimental. Foi registrada a detecção fotométrica e posteriormente os tubos coletados foram contados no detector de raios- $\gamma$ , obtendo-se o registro radiométrico.

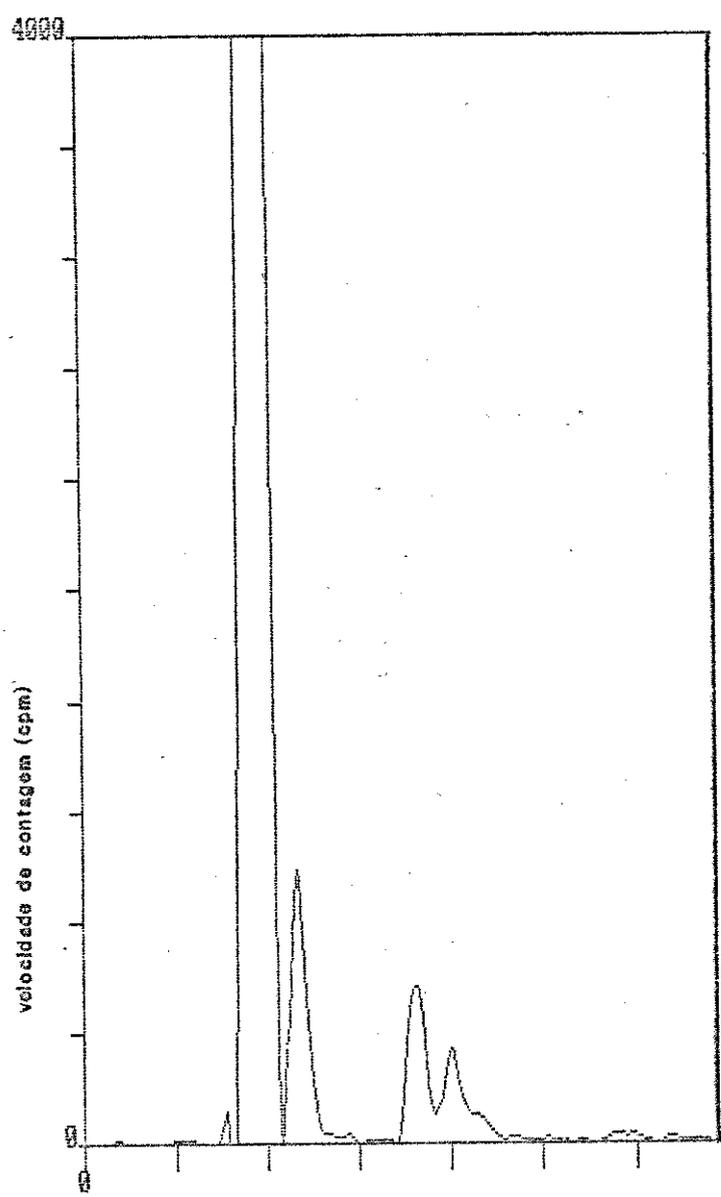
### 8.1 - Teste de Preparação de Solução de Espécies Hidrolíticas de Cr(III) Marcada com $^{51}\text{Cr}$

Pretendeu-se, com esse teste, verificar se a adição do traçador contendo  $^{51}\text{Cr}$  poderia ou não ser feita após a adição de base para produção das espécies hidrolíticas.

Foram então preparadas duas soluções: na primeira adicionou-se a base e depois o traçador; na outra fêz-se o contrário. Os resultados obtidos são mostrados nas figuras 25 e 26.

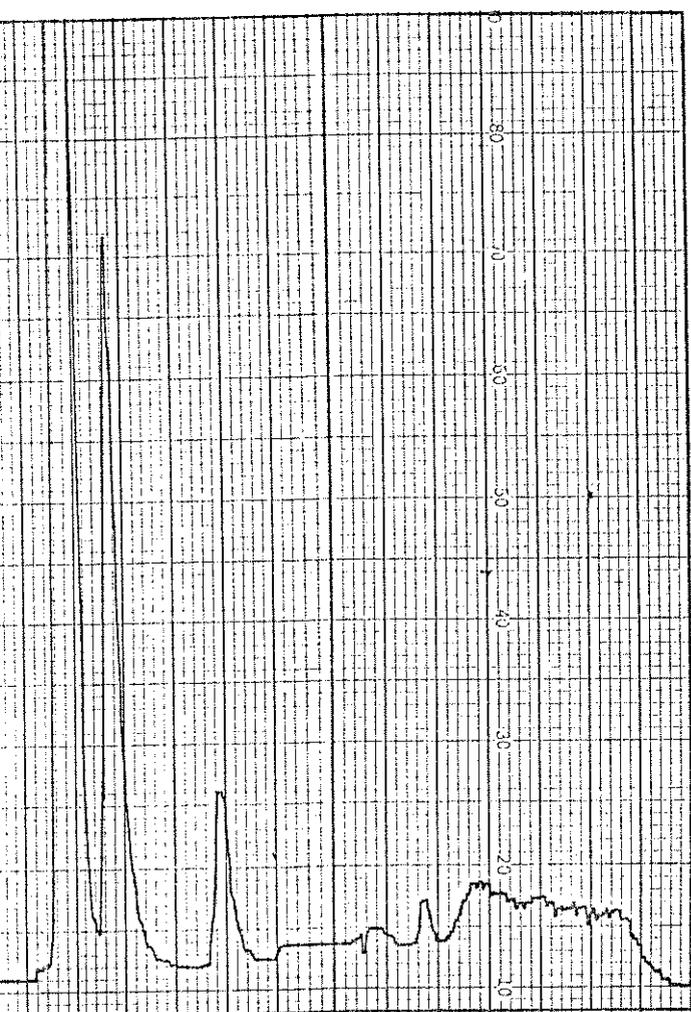


(A)

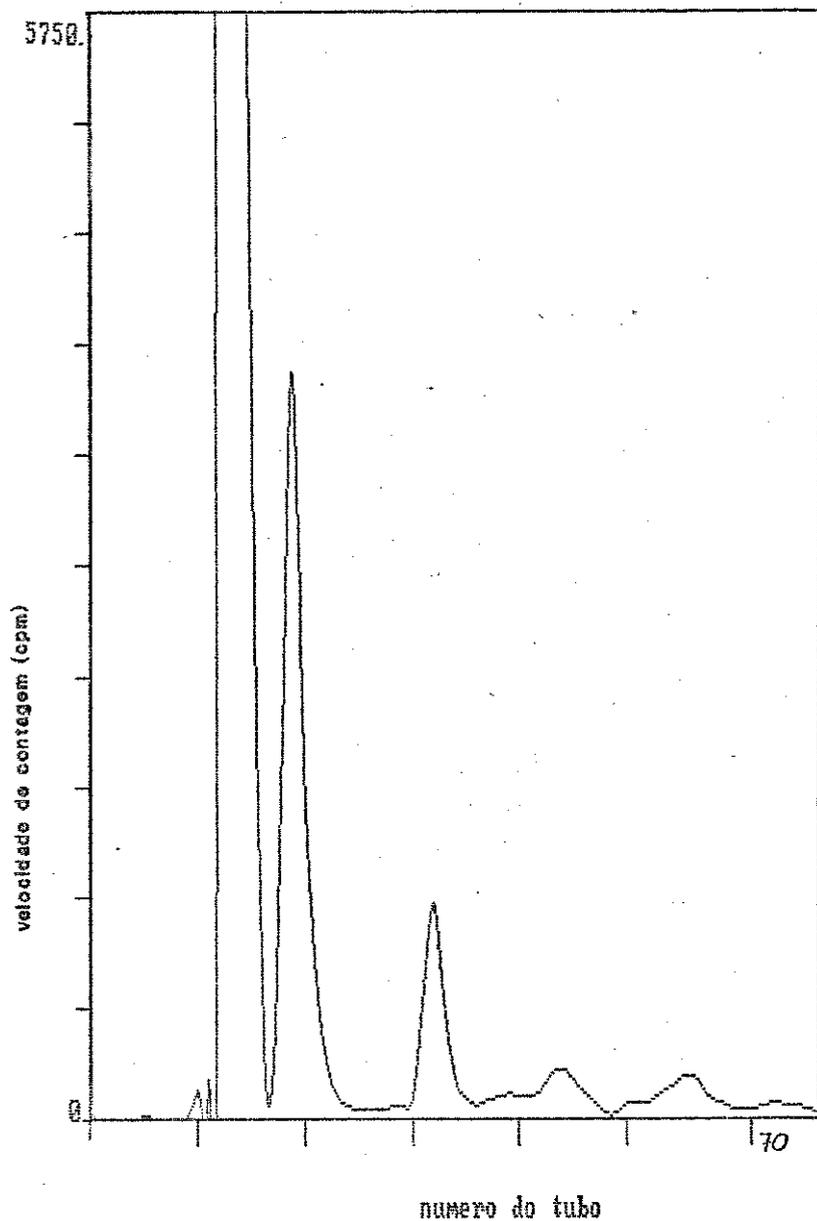


(B)

Figura 25- Comparação dos registros fotométrico (A) e radiométrico (B) da injeção de espécies hidrolíticas preparada pela adição do traçador após a adição de base.



(A)



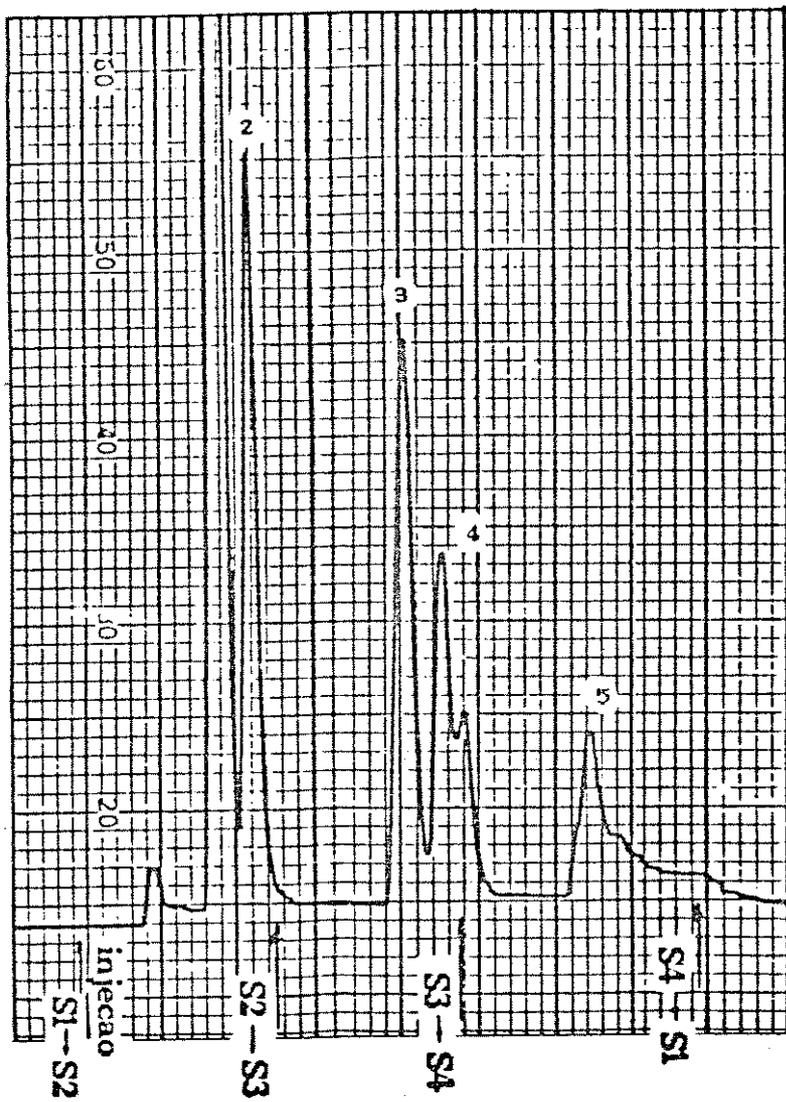
(B)

Figura 26- Comparação dos registros fotométrico (A) e radiométrico (B) da injeção de espécies hidrolíticas preparada pela adição do traçador antes da adição de base.

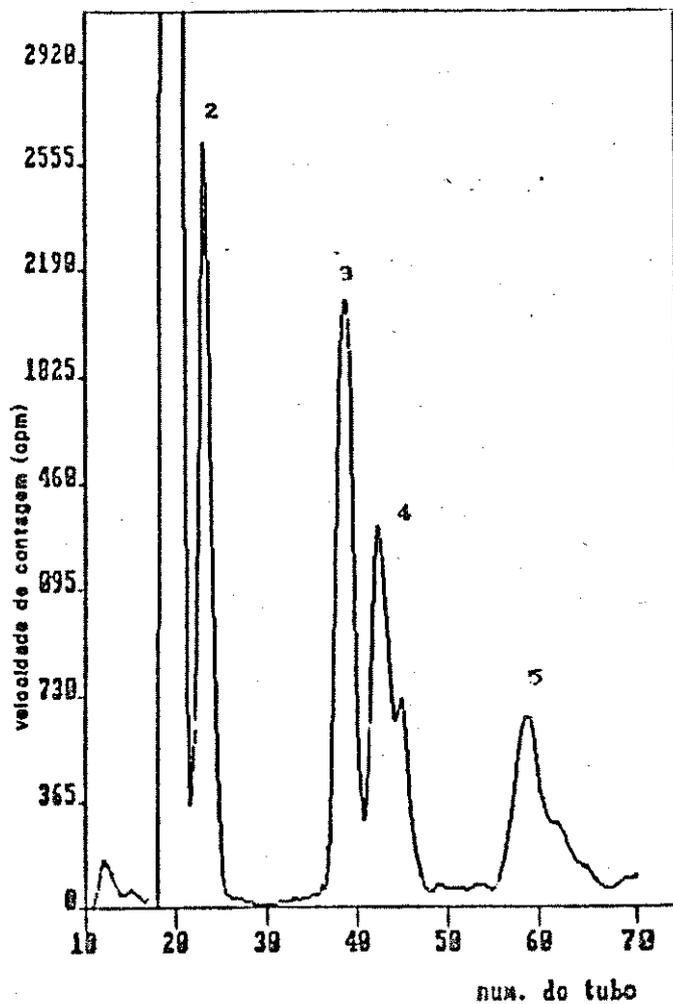
Pelas figuras 25 e 26 concluímos que o traçador precisa ser adicionado antes da base, para que o  $^{51}\text{Cr}$  se distribua razoavelmente entre as espécies. Seria necessário um estudo de tempo ou tratamento da solução necessário para que essa distribuição fosse melhor no caso da adição do traçador depois da adição de base.

## 8.2 - Teste de Eficiência de Detecção das Espécies Hidrolíticas Poliméricas

Para esse teste foram tirados cromatogramas simultâneos fotométricos e radiométricos para duas diferentes colunas, e comparados os registros obtidos. Os resultados obtidos são mostrados nas figuras 27 e 28 e tabelas 17 e 18.



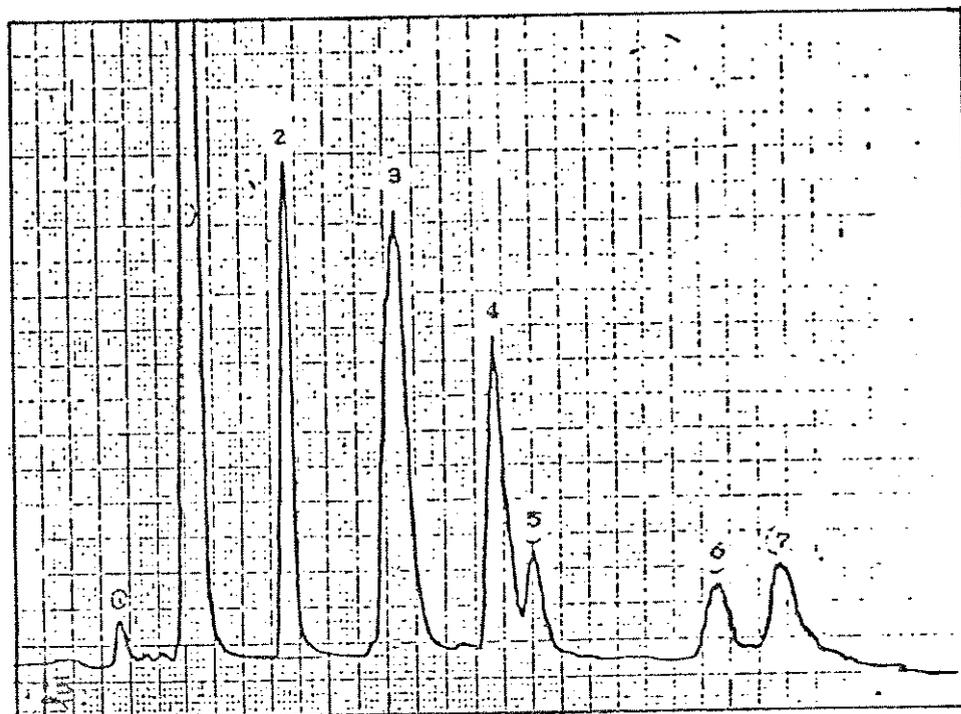
(A)



(B)

Figura 27- Comparação do registro fotométrico (A) e registro radiométrico (B). Foi usada a coluna (b) e as seguintes condições experimentais:  $V_i = 8 \mu\text{l}$ ; vazão = 1,45 ml/min; aten. = 200 mV; vel. papel = 20 cm/h e tempo total de análise = 30 min.

(A)



(B)

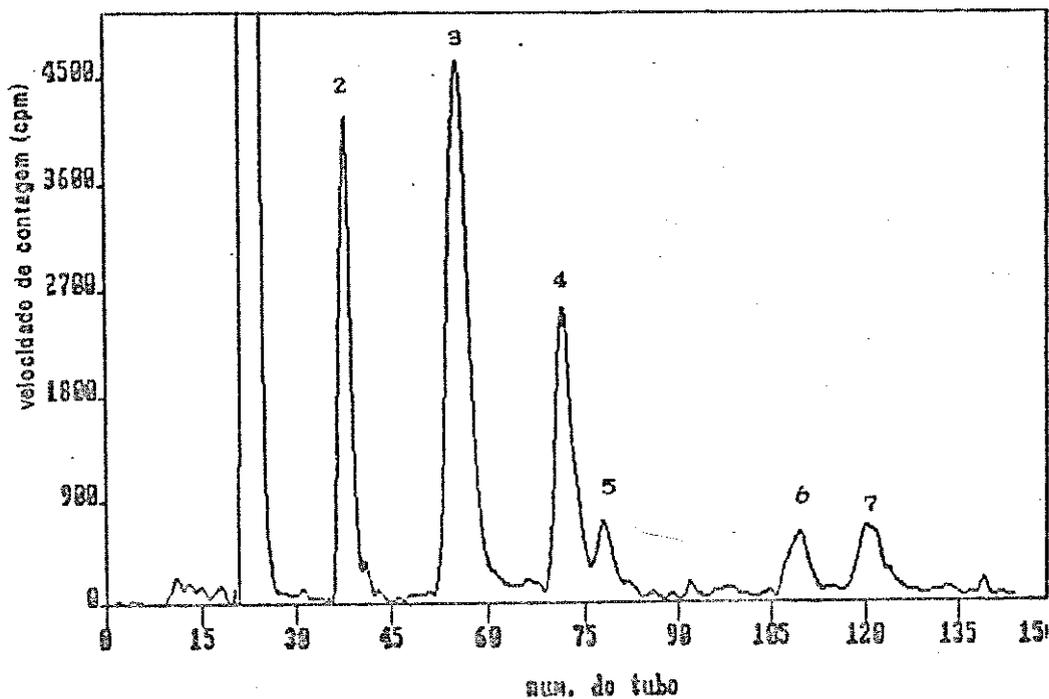


Figura 28- Comparação do registro fotométrico (A) e registro radiométrico (B). Foi usada a coluna (c) nas seguintes condições experimentais:  $V_i = 15 \mu\text{l}$ ; vazão = 1,3 ml/min.; aten. = 200 mV; vel. papel = 30 cm/h e tempo total de análise = 62 min.

Foram somadas as atividades correspondentes a cada pico e calculadas as razões atividade/área dos picos correspondentes, mostradas nas tabelas 17 e 18. As áreas foram calculadas pelo método de pesagem.

Tabela 17 : Razões atividade/área dos picos correspondentes, referentes à figura 27.

---

2B/2A	3B/3A	4B/4A	5B/5A
909	1025	1078	987

---

Tabela 18 : Razões atividade/área dos picos correspondentes, no registro fotométrico e radiométrico, referentes à figura 28.

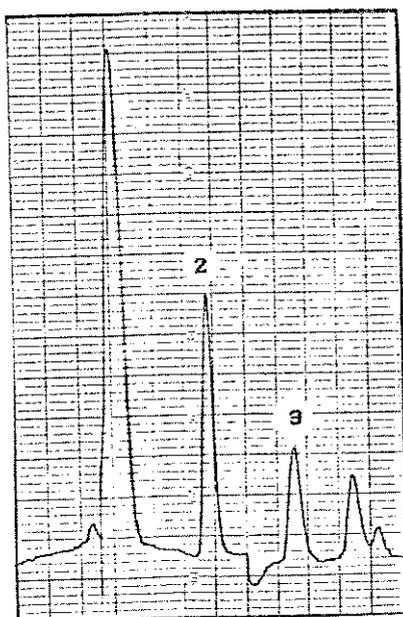
---

2B/2A	3B/3A	4B/4A	5B/5A	6B/6A	7B/7A
1148	1396	1138	1036	1150	1022

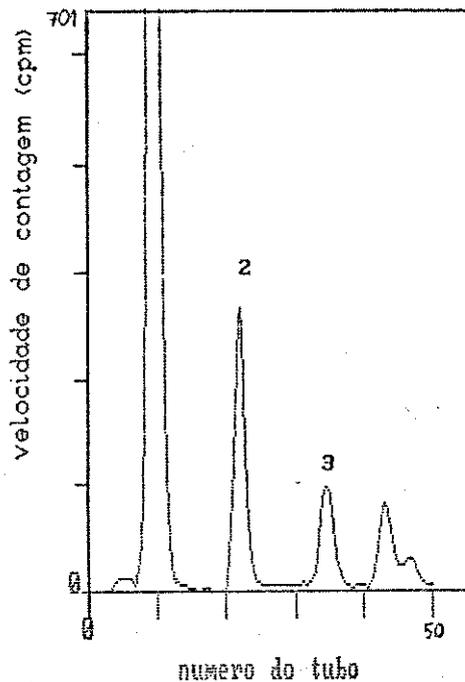
---

Podemos observar, pela figura 28 e tabela 18, que o pico número dois apareceu maior no registro radiométrico, o que poderia significar uma ineficiência do sistema de derivatização. Os demais picos se mostraram extremamente semelhantes nos dois registros. O primeiro pico (hexaaquo) não pode ser comparado, uma vez que, fotometricamente, seu registro não cai na faixa de linearidade, pois sua concentração deve ser maior que 10 ppm.

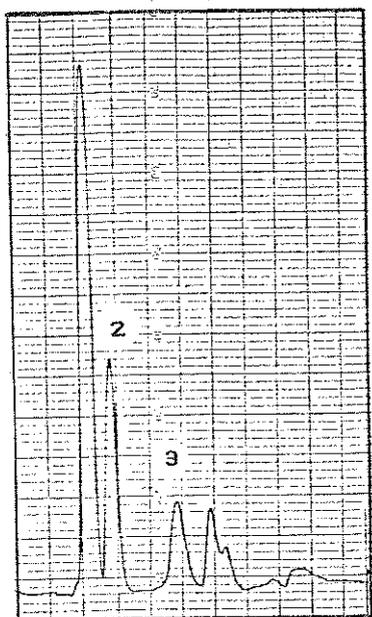
Foram realizados então novos testes, com a atenção focalizada na região dos picos número dois e três, e os resultados obtidos são mostrados na figura 29.



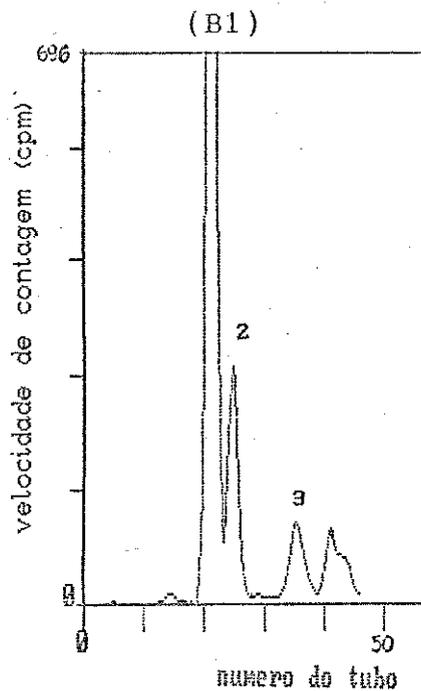
coluna c



(A1)



coluna b

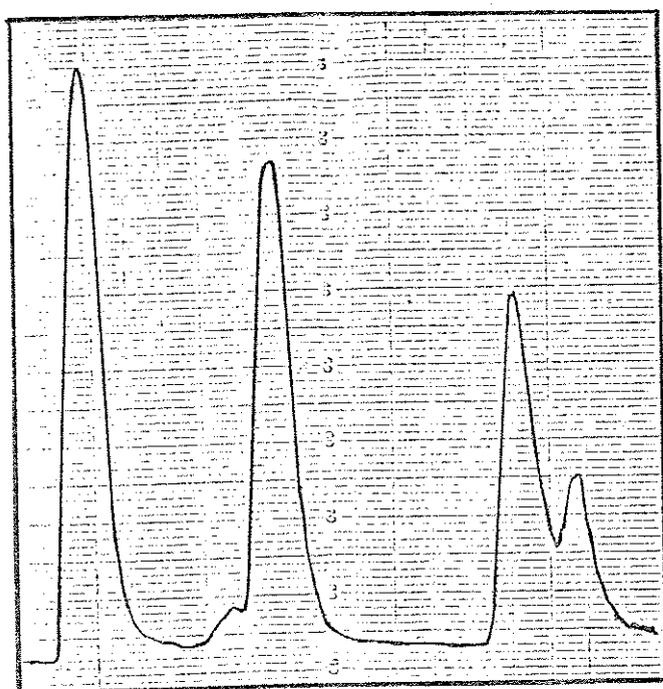


(A2)

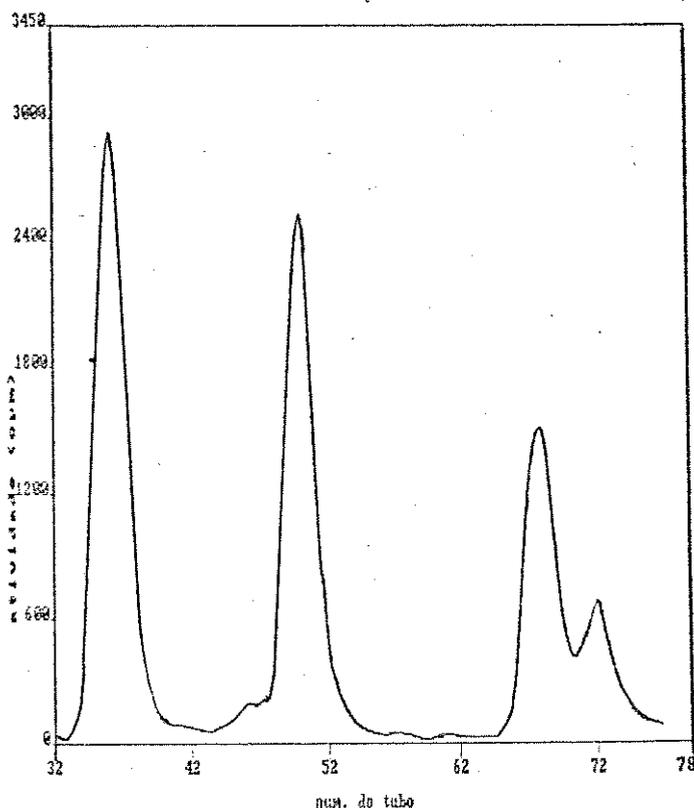
(B2)

Figura 29- Registros obtidos por detecção fotométrica (A1), (A2) e detecção radiométrica (B1), (B2) com atenção focalizada para o segundo e terceiro picos. O primeiro pico corresponde ao monômero.

Vemos que esses resultados não confirmaram uma ineficiência na detecção fotométrica. Observa-se, nesses registros, que os picos que saem depois do hexaaquo estão menores que os que foram obtidos com soluções preparadas a mais tempo. Decidiu-se, então tirar novo cromatograma, duas semanas depois, quando o pico correspondente ao trímero deveria estar maior, e comparar os dois registros. Para esse teste fez-se também uma injeção maior, de 15,2  $\mu$ l. Os registros obtidos estão na figura 30.



(A)



(B)

Figura 30- Registros fotométrico (A) e radiométrico (B) de injeção de espécies hidrolíticas de Cr(III) após estocagem.

Nessa figura vemos os dois registros praticamente sobreponíveis, inclusive no pequenos sinais da linha de base.

## 9 - Variações na Composição das Espécies com o Tempo

A figura 31 mostra alguns cromatogramas de soluções de espécies hidrolíticas de Cr(III) preparadas segundo item 2.2.2 da parte experimental. Esses cromatogramas foram tirados em tempos diferentes após o preparo da solução.

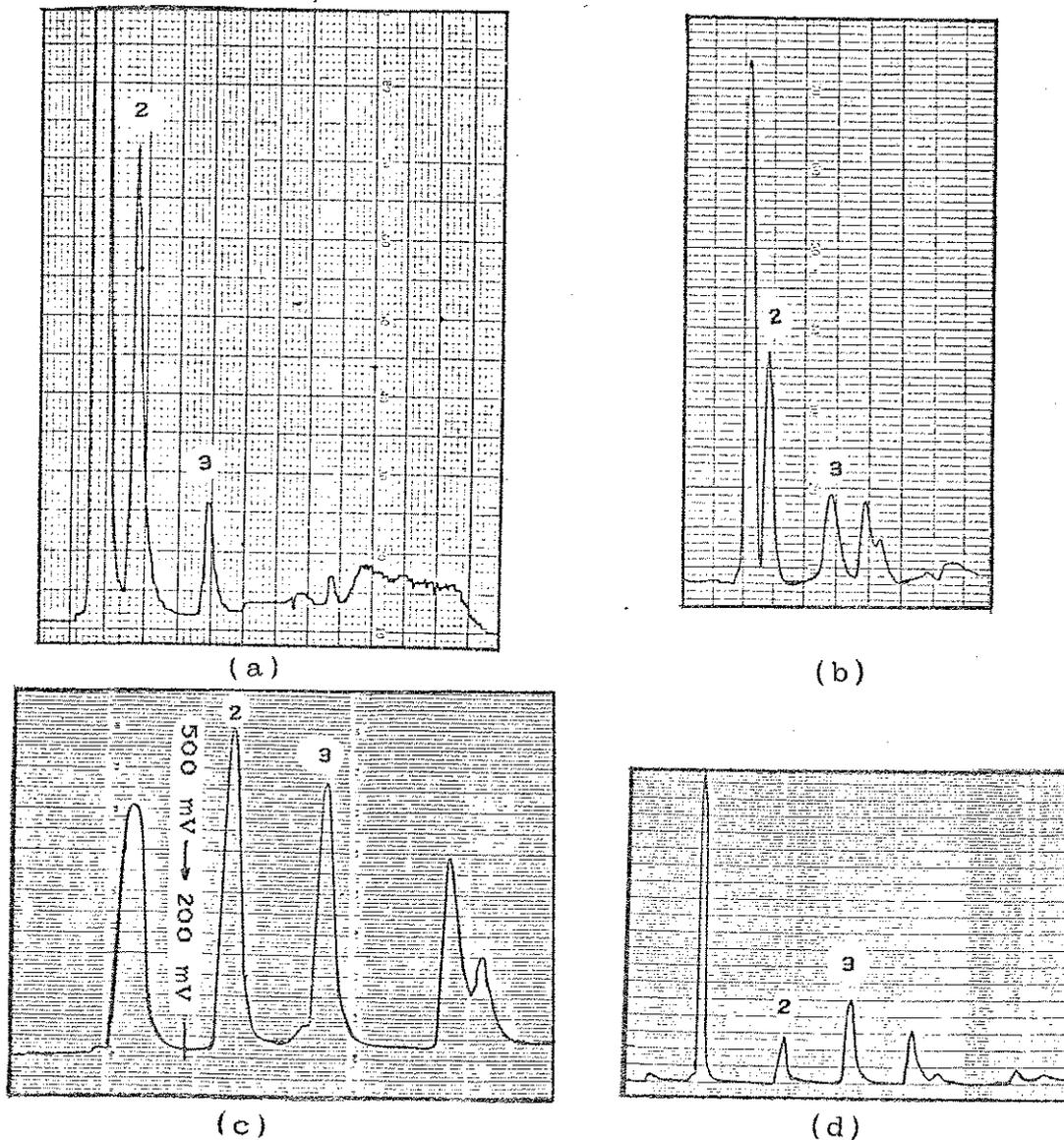


Figura 31- Cromatogramas de solução de espécies hidrolíticas de Cr(III) tirados: (a) no dia do preparo; (b) 3 dias depois; (c) 8 dias depois; (c) 30 dias depois; (d) 165 dias depois.

Esses cromatogramas mostram o progresso na formação das espécies hidrolíticas de Cr(III). Isso é bem observado com a atenção focalizada para o segundo e terceiro picos, que estão assinalados. Vemos que o sinal do terceiro pico aumenta, até que passa ser maior que o do segundo.

#### 10- Informações sobre Atribuição de Espécies

Para atribuição do monômero foi injetada uma solução do hexaaquo puro e o tempo de retenção obtido foi igual ao do pico mais intenso dos cromatogramas das figuras 17, 18, 19 e 20.

Como a espécie monomérica não tem isômeros, presume-se que a próxima espécie que sai seja o dímero, uma vez que foram eliminadas quaisquer dúvidas sobre a existência de picos-fantasma devido a problemas de injeção ou qualquer outra hipótese.

Foram utilizadas as corridas cromatográficas mostradas no item 5 desta parte, uma com um sistema convencional, em que a atribuição do dímero é bem conhecida, e a outra com o sistema montado, ambas com registros radiométricos. Através de comparações de porcentagem de atividade de cada pico obteve-se mais indícios de que o segundo pico é o dímero, o que é mostrado na tabela 14.

## VI - CONCLUSÕES

Foi conseguida a separação e detecção de sete espécies hidrolíticas de Cr(III).

O uso do sistema de derivatização mostrou-se vantajoso, uma vez que todas as espécies são detectadas com a mesma eficiência na concentração estudada e com uma sensibilidade maior que a 415 nm.

As eficiências das reações de oxidação e complexação mostraram-se grandes na faixa de concentração de  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$  M.

A diminuição pela metade do tamanho de partícula usada como fase estacionária aumentou em dobro a eficiência da separação.

O uso do fotômetro simples mostrou-se vantajoso sobre os detectores comerciais porque, além de mostrar uma sensibilidade maior devido a um maior volume de cela, ele não mostrou sinais grandes devido a troca de solventes, o que aconteceu com os detectores comerciais usados.

O uso de um sistema HPLC mostrou-se vantajoso sobre um sistema a pressão atmosférica, pois consegue-se que as espécies saiam mais rápido e melhor resolvidas.

Além da separação das espécies hidrolíticas de Cr(III), o equipamento pode ser usado para separar Cr(VI) e as espécies hidrolíticas de Cr(III).

Vale mencionar que foi publicado um trabalho este ano<sup>(51)</sup> em que os autores usam um equipamento muito semelhante a este, para separar Cr(III) e Cr(VI). Ele usa um sistema HPLC com uma coluna de par-iônico e um sistema de derivatização com as mesmas reações utilizadas neste projeto. Ele consegue um limite de detecção da ordem de  $10^{-7}$  M para Cr(III), que é comparável com detector de Absorção Atômica.

Acreditamos, portanto, que o limite de detecção aqui obtido possa ser melhorado com o uso de um detector com melhor geometria de cela um maior volume de injeção, fatos observados no trabalho mencionado.

## VII - BIBLIOGRAFIA

- (1) Florence, T. M. e Batley, G. E., "Chemical Speciation in Natural Waters", CRC Crit. Rev. Anal. Chem. 9(1980) 219-295.
- (2) Williams, T.; Jones, P. e Ebdon, L., "Simultaneous Determination of Cr(III) and Cr(VI) at Ultratrace Levels Using Ion Chromatography with Chemiluminescence Detection", J. Chromatogr. 462(1989)361-366.
- (3) Pankow, J. F. e Janauer, G. E., "Analysis for Chromium Traces in Natural Waters. Part I- Preconcentration of Chromate from ppb Levels in Aqueous Solution by Ion Exchange", Anal. Chim. Acta, 69(1974)97-104.
- (4) N. Bjerrum, "Studier over Basike Kromiformbindelser", Copegnhagem, 1908, tese de Pós- doutorado.
- (5) Baes, C. F. e Mesmer, R. E. "The Hydrolysis of Cations", John Wiley & Sons , New York (1976)211-219.
- (6) Taube H., "Rates and Mechanisms of Substitution in Inorganic Complexes in Solution", Chem. Rev. 50(1952)69
- (7) Thompson, M. e Connick, R. E., "Hydrolytic Polymerization of Chromium (III). 1. Two Dimeric Species", Inorg. Chem. 20(1981)2279-2285.
- (8) Drago, R. S., "Physical Methods in Inorganic Chemistry", Van

Nostrand Reinhold Company, New York, 1965.

(9) Stünzi, H. e Marty, W., "Early Stages of Hydrolysis of Chromium (III) Aqueous Solution. 1. Characterization of a Tetrameric Species", Inorg. Chem. 22(1983)2145-2150.

(10) Barbier, J. P.; Kappenstein, C. e Hugel; R., "The Hydration Isomers of Chromium (III) Chloride", J. Chem. Ed. 49(1972)204-205.

(11) Kalinichenko, I. I.; Kotyaeva, A. A. e Baiakova, L. A., "Some Properties of a Dinuclear Chromium (III) Complex", Rus. J. Inorg. Chem. 24(1979)38-40.

(12) Andersen, P. e Berg, T., "New Hydroxo-bridged Polynuclear Ethylenediamine Chromium(III) Complexes" Acta Chem. Scand., A32(1978)989.

(13) Bang, E., "Redetermination of the Crystal Structure of the Tetrameric Chromium(III) Amine Complex  $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_4(\text{OH})_6]\text{Cl}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  at 110 K", Acta Chem. Scand., A38(1984)419-421.

(14) Spiccia, L.; Stoeckli-Evans, H., Marty, W. e Giovanoli, R., "A New 'Active' Chromium(III) Hydroxide:  $\text{Cr}_2(\mu\text{-OH})_2(\text{OH})_4(\text{OH}_2)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Characterization and Use in the Preparation of Salts of the  $(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cr}(\mu\text{-OH})_2\text{Cr}(\text{OH}_2)_4^{4+}$  Ion. Crystal Structure of  $[(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cr}(\mu\text{-O})_2\text{Cr}(\text{OH}_2)_4][(\text{H}_3\text{C})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{SO}_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Inorg. Chem.

26(1987)474-482.

(15) Spiccia, L. Marty, W. e Giovanoli, R., "Hydrolytic Trimer of Chromium(III). Synthesis through Chromite Cleavage and Use in the Preparation of the "Active" Trimer Hydroxide", Inorg. Chem. 27(1988)2660-2666.

(16) Stünzi, H.; Rotzinger, F. P. e Marty, W., "Early Stages of the Hydrolysis of Cr(III) in Aqueous Solution. 2. Kinetics and Mechanism of the Interconversion between Two Tetrameric Species", Inorg. Chem. 23(1984)2160-2164.

(17) Ardon, M.; Plane, R. A. "The Formation of a Dinuclear Cr(III) Species by Oxidation of Chromous Solution", J. Am. Chem. Soc. 81(1959)3197-3200.

(18) Finholt, J. E.; Thompson, M. E. e Connick, R. E., "Hydrolytic Polymerization of Chromium (III). 2. A Trimeric Species", Inorg. Chem. 20(1981)4151-4155.

(19) Ardon, A. e Linenberg, A., "Cryoscopic Determination of Molecular Weights in Aqueous Perchloric Acid", J. Phys. Chem., 65(1961)1443.

(20) Kolaczowski, R. W. e Plane, R. A., "The Characterization of  $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_4\text{OH}]_2^{4+}$  and Its Formation by Oxygen Oxidation of Chromous Solutions", Inorg. Chem. 3(1964)322.

- (21) Spiccia, L. e Marty, W., "The Fate of "Active" Chromium Hydroxide,  $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , in Aqueous Suspension. Study of the Chemical Changes Involved in Its Aging", *Inorg. Chem.* 25(1986)266-271.
- (22) Stünzi, H.; Spiccia, L.; Rotzinger, F. P. e Marty, W., "Early Stages of the Hydrolysis of Chromium(III) in Aqueous Solution. 4. Stability Constants of the Hydrolytic Dimer, Trimer and Tetramer at 25°C and I = 1.0 M", *Inorg. Chem.* 28(1989)66-71.
- (23) Fritz, J. S.; Gjerde, O. T. e Pohlandt, C., "Ion Chromatography", Verlag, New York, 1982.
- (24) Snyder, L. R. e Kirkland, J. J., "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2<sup>a</sup> ed., John Wiley & Sons, New York, 1973.
- (25) Jorgensen, S. S. e Regitano, M. A. B., "Rapid Determination of Chromium(VI) by Flow Injection Analysis", *Analyst*, 105(1980)292-295.
- (26) Andrade, J. C.; Rocha, J. C. e Baccan, N., "On-line Oxidation of Cr(III) to Cr(VI) for Use with the Flow Injection Analysis Technique", *Analyst*, 109(1984)645-647.
- (27) Bonato, P. S., "Desenvolvimento de Métodos Cromatográficos para a separação de Espécies hidrolíticas de Cr(III), Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 1986, tese de doutorado.

- (28) Sandel & Onishi, "Photometric Determination of Traces of Metals", John Wiley & Sons, New York, 1976, 389.
- (29) Whitaker, M. J., "Determination of Total Chromium by Flow Injection Analysis", Anal. Chim. Acta, 174(1985)375-378.
- (30) Carswell, D. J., "Introduction to Nuclear Chemistry", Elsevier Publishing Co., New York, 1967.
- (31) Walker, F. W., Miller, D. G. e Feiner, F., "Chart of the Nuclides", General Electric Co., 13<sup>a</sup> edição, 1984.
- (32) Erdtmann, G. e Soyka W., "Die  $\gamma$ -linien der Radionuklide", Band 1, K. F. A., Jülich, 1974.
- (33) Wexler S., "Proc. Symp. Chemical Effects of Nuclear Transformations", International Atomic Energy Agency, 1(1961)115.
- (34) Snell, A. H. e Pleasonton, F., "The Atomic and Nuclear Consequences of Radioactive Decay", J. Phys. Chem., 62(1958)1377.
- (35) Maretti, M. I. L., "Estudo de Análise e Recizimento de Cristais de  $\text{Co}(x)(\text{dipy})_3(\text{ClO}_4)_x$ , (x=1, 2 ou 3) Dopados com Radiocobalto", Campinas, Universidade de Campinas, 1983, tese de mestrado.
- (36) Laswick, J. A. e Plane, R. A., "Hydrolytic Polymerization in Boiled Chromic Solutions", J. Am. Chem. Soc. 81(1959)3564-3567.

- (37) Finholt, J. E., "Chemistry of Some Hydrolyzed Cr(III) Polymers" Report UCRL-8879, 1960.
- (38) Thompson, G., "Hydrolytic Polymerization in Cr(III) Solutions", Report UCRL-11410, 1964.
- (39) Rotzinger, F. P.; Stünzi, H. e Marty, W., "Early Stages of the Hydrolysis of Chromium(III) in Aqueous Solution. 3. Kinetics of Dimerization of the Deprotonated Aqua Ion", Inorg. Chem. 25(1986)489-495.
- (40) Qinhuai, L.; Mengchang, S.; Yi, D.; Jiango, R. e Anbang, D., "The State of Chromium(III) Ion in Aqueous Solution", Scientia Sinica (series B) 29(1986)785-794.
- (41) Collins, K. E.; Bonato, P. S.; Queiroz, M. E. L. R. e Collins, C. H., "Column Chromatographic Speciation of Chromium for Cr(VI) and Several Species of Cr(III)", Chromatographia 26(1988)160-162.
- (42) Merakis, T; Spiccia, L., "Early Stages of the Hydrolysis of Chromium(III) in Aqueous Solution. 5. Measurements of Equilibrium Between Singly and Doubly Bridged Dimer", Aust. J. Chem. 42(1989)1579-1589.
- (43) Ruz, J.; Luque de Castro, M. D., "Flow-Injection Configuration for Chromium Speciation with a Single Spectrophotometric Detector",

Anal. Chim. Acta, 186(1986)139-146.

(44) Andrade, J. C.; Rocha, J. C. e Baccan, N., "Sequential Spectrophotometric Determination of Chromium(III) and Chromium(VI) Using Flow Injection Analysis", *Analyst*, 110(1985)197-199.

(45) Pasquini, C. e Raimundo, I. M., "Um Fotômetro Simples para Análise por Injeção em Fluxo", *Quím. Nova*, 7(1984)24-28.

(46) Tong, L. Y. e King, E., "The Kinetics and Mecanism of the Reaction of Cerium(IV) and Chromium(III)", *J. Am. Chem. Soc.*, 82(1960)3805-3809.

(47) Fogel, N.; Tai, J. M. J. e Yarborough, J., "Chromium(III) Sulfate in Acid Sulfate Solutions", *J. Am. Chem. Soc.*, 84(1962)1145-1151.

(48) Sano, H., "Radioactive Tracer Study of the Reaction between Chromium(VI) and Diphenylcarbazide", *Anal. Chim. Acta*, 27(1962)398-399.

(49) Pfaum, R. T.; Howick, L. C., "The Chromium-DFC Reaction", *J. Am. Chem. Soc.*, 78(1956)4862.

(50) Andrade, J. C.; Rocha, J. C.; Pasquini, C. e Baccan, N., "Effect of On-line Complex Formation Kinetics on the Flow Injection Analysis Signal: the Spectrophotometric Determination of Chromium(VI)",

Analyst, 108(1983)621-625.

(51) Trojanowicz, M.; Pobozy, E. e Worsfold, P. J., "Speciation of Chromium by Ion-pair Chromatography with Post-column Spectrophotometric Detection", Anal. Letters 25(1992)1373-1387.